

**THÈSE**

présentée

DEVANT L'UNIVERSITÉ CLAUDE-BERNARD - LYON

pour obtenir

le titre de DOCTEUR DE L'UNIVERSITÉ (mention Sciences)

par

**François QUOEX**

---

**MICROSTIMULATION ELECTRIQUE  
DE NEURONES CORTICAUX :  
CONTRIBUTION A UNE ETUDE  
QUANTITATIVE ET STATISTIQUE**

Soutenue le 7 Juilllet 1971 devant la Commission d'Examen

MM. J. CHANEL ..... *Président*

J. M. LEGAY .....  
A. HOLLEY .....  
P. GERIN ..... } *Examineurs*



Digitized by the Internet Archive  
in 2026

[https://archive.org/details/IA41546306\\_0035](https://archive.org/details/IA41546306_0035)







**THÈSE**

présentée

DEVANT L'UNIVERSITÉ CLAUDE-BERNARD - LYON

pour obtenir

le titre de DOCTEUR DE L'UNIVERSITÉ (mention Sciences)

par

**François QUOEX**

---

**MICROSTIMULATION ELECTRIQUE  
DE NEURONES CORTICAUX :  
CONTRIBUTION A UNE ETUDE  
QUANTITATIVE ET STATISTIQUE**

Soutenue le 7 Juillet 1971 devant la Commission d'Examen

MM. J. CHANEL ..... *Président*

J. M. LEGAY .....  
A. HOLLEY .....  
P. GERIN .....  
} *Examineurs*



Président : M. le Professeur J. BOIDIN.

1er Vice-Président : M.R. TOURAINE, Maître de Conférences agrégé.

2ème Vice-Président : M.P. PONCET, Maître-Assistant.

3ème Vice-Président : M.D. SETTELEN, Etudiant.

UNITES D'ENSEIGNEMENT ET DE RECHERCHE

UNITES

DIRECTEURS

U.E.R. médicale Grange-Blanche

U.E.R. médicale Alexis-Carrel

U.E.R. médicale LYON-Nord

U.E.R. médicale LYON-Sud-Ouest

U.E.R. des Sciences pharmaceutiques

U.E.R. des Techniques de Réadaptation

U.E.R. de Biologie humaine

Institut Régional d'Education Physique  
et Sportive

U.E.R. de Mathématiques

U.E.R. de Physique

U.E.R. de Chimie et Biochimie

U.E.R. des Sciences de la Nature

U.E.R. de Biodynamique et Psychopédagogie

U.E.R. de Physique nucléaire

Institut Universitaire de Technologie I

Institut Universitaire de Technologie II

Observatoire

M. le Professeur D. GERMAIN

M. le Professeur C. GIROD

M. le Professeur A. BERTOYE

M. le Professeur L. TOLOT

M. M. CARRAZ, Maître de Conférences agrégé

M. le Professeur P. MOUNIER-KUHN

M. J.C. CZYBA, Maître de Conférences agrégé

M. J. SAPIN, Professeur E.P.S.

M. le Doyen J. BRACONNIER

M. le Professeur M. DUFAY

M. le Professeur D. GAUTHERON

M. le Professeur L. DAVID

M. le Professeur J. CHANEL

M. le Professeur A. SARAZIN

M. le Professeur L. FEUVRAIS

M. J. GALLET

M. le Professeur J.H. BIGAY

Secrétaire Général : M.P. IZAUTE





Ce travail a été réalisé à l'Unité de Physiopathologie du Système Nerveux de l' I.N.S.E.R.M. sous la direction du Docteur Paul GERIN. Nous lui sommes redevables de notre formation, il nous a guidés tout au long de ce travail sans ménager son temps et ses conseils. Nous sommes particulièrement heureux de lui exprimer notre gratitude et notre profond attachement.

Monsieur le Professeur CHANEL a bien voulu accepter de présider notre Jury, nous sommes très sensibles à l'honneur qu'il nous a fait.

Nous remercions Monsieur le Professeur LEGAY et Monsieur le Professeur HOLLEY des conseils éclairés qu'ils nous ont prodigués à certaines étapes de ce travail.

Nous voulons remercier également tous les membres de l'Unité qui de près ou de loin ont contribué à l'élaboration de ce travail, et plus particulièrement Madame A. LAVIRON, Mademoiselle Y. ANDRE, Monsieur S. BELLO.





## I N T R O D U C T I O N

En 1870, dans une observation princeps FRITSCH et HITZIG montraient les effets de l'application d'un courant continu (DC) sur l'activité cérébrale.

Depuis, de nombreux auteurs (BARRON et MATTHEWS 1938), (BISHOP et O'LEARY 1950), (BINDMANN et Coll. 1964), (BONNET 1956), (BREMER 1958), (BROOKHART et BACHLY 1952), (CALVET et SCHERRER 1961), (DUBNER et GERARD 1939), (MOLLIKA et Coll. 1953), MOLLIKA et ROSSI 1954), (PURPURA et Mc MURTRY 1965), (TERZUOLO et BULLOCK 1956), ont abordé ce problème avec des techniques différentes, sur des préparations diverses et ont confirmé les résultats de l'observation initiale. L'application d'un courant continu positif à la surface du cortex a des effets facilitateurs sur l'activité corticale, tandis qu'un courant de polarité inverse a des effets contraires.

En 1940, GERARD et LIBET décrivent l'existence d'un "steady potential" (SP) entre la surface corticale et le ventricule. De nombreux expérimentateurs (DUBNER et GERARD 1939), (LIBET et GERARD 1941), (LIBET et KAHN 1947), (O'LEARY et GOLDRING 1959), (CASPER et SCHULZE 1959), (LI et SALMOIRAGHI 1963), (O'LEARY et GOLDRING 1964), montrent l'influence des variations du SP sur l'activité globale et unitaire cérébrale.

L'analogie du courant imposé avec les corrélations à des degrés divers entre les variations du SP et l'activité cérébrale est frappante.

Le problème qui est posé ici est de savoir si les champs électriques corticaux permanents ont une action quantitativement et qualitativement analogue sur l'activité cellulaire, à celle que l'on crée expérimentalement par application de courant.

Les travaux de (CREUTZFELDT et Coll. 1962), apportent un certain nombre de réponses à ces questions. Pour cet auteur, il existe une similitude d'action, mais aucune relation quantitative.



D'une façon générale, ces expériences ont été réalisées en faisant passer une assez grande quantité de courant entre une électrode corticale et la référence. La diffusion du courant dans les réseaux neuroniques entraîne des interactions nombreuses qui rendent difficile l'interprétation des résultats.

Une technique séduisante mise au point par (ARAKI et OTANI 1955), qui consiste à injecter du courant par la microélectrode d'enregistrement est actuellement largement utilisée. Dans ces conditions, on peut créer des microchamps électriques localisés au niveau de la cellule à étudier.

Des études intracellulaires (IC) furent entreprises par (FRANK et FUORTES 1956), (FUORTES et MANTEGAZZINI 1962), (FRANK et FUORTES 1960), (GRANIT et coll. 1963 a, b, c,), (GRANIT et coll. 1966 a, b,), (GRANIT 1964), sur les motoneurones médullaires.

(STRUMWASSER et ROSENTHAL 1960) sur le neurone de grenouille, (EULER et GREEN 1960), (GERIN et COURJON 1962) sur le lapin, étudient l'action extracellulaire (EC) des micro-courants.

Plus récemment, (VORONIN et FESSARD 1969) traitent de l'action des microstimulations intracellulaires sur le lapin.

Enfin, (CHALAZONITIS et coll. 1967), s'attachent à montrer l'action des micro-courants sur les neurones à ondes lentes du ganglion viscéral d' APLYSIA.

Quelles que soient les préparations étudiées, que la microstimulation appliquée soit (IC) ou (EC), les résultats convergent. On note une extraordinaire sensibilité de l'activité cellulaire neuronale. Elle est exagérée par des courants dépolarisants, freinée ou bloquée par des courants hyperpolarisants.

Pour notre part, nous avons repris l'expérimentation chez le lapin, de microstimulations (EC), pour tenter de répondre à un certain nombre de questions.





### 1 - Degré de sensibilité et évolution temporelle.

Quel est le degré de sensibilité de l'activité cellulaire aux micro-stimulations extracellulaires ? Quelle relation existe-t-il entre l'intensité du courant de stimulation et cette activité ? La loi de relation linéaire exprimée pour les stimulations intracellulaires est-elle extrapolable dans ce cas ?

Quelle est l'évolution dans le temps de l'activité cellulaire soumise à la stimulation ? Peut-on mettre en évidence des effets cumulatifs, des post-effets, et des phénomènes d'habituation ? Pour répondre à ces questions, nous avons systématiquement traité nos données par l'analyse statistique.

### 2 - Mode d'action du courant.

Comment agit le courant sur l'activité cellulaire ? Pour répondre, on peut émettre un certain nombre d'hypothèses. S'agit-il d'une modification des propriétés électriques de la membrane cellulaire ? L'action va-t-elle dans le sens d'une modification de la dynamique de la transmission chimique ? Agit-on sur l'activité cellulaire, par un processus lésionnel mécanique de la membrane ?

### 3 - Localisation de la genèse des activités cellulaires.

Enfin, peut-on utiliser ces données pour identifier l'endroit où se trouve la micro-électrode par rapport à la cellule ? Par voie de conséquence, peut-on tenter de préciser où prend naissance telle ou telle activité particulière du neurone ?

### Problèmes expérimentaux.

Cette expérimentation nous a amené à mettre en oeuvre des moyens techniques assez importants. Les résultats donnés ici, sont exprimés en fonction d'un contexte expérimental précis. Ce souci de précision nous a amenés à discuter en détail de certains aspects techniques particuliers à ce genre d'expérience.

Nous avons donc volontairement accordé aux chapitres I et II une extension inhabituelle. Le plan adopté est le suivant.



I TECHNIQUES ET METHODES.

1. La préparation.
2. Les électrodes.
3. Matériel de stimulation.
4. Matériel d'enregistrement.

II METHODES STATISTIQUES D'EXPLOITATION DES DONNEES.

1. Position du problème.
2. Les tests statistiques.
3. Les plans expérimentaux.
4. Les cellules témoins.
5. La programmation.

III RESULTATS.

1. L'activité unitaire.
2. Stimulation en courant continu dépolarisant.
3. Interactions et tableaux intermédiaires.
4. Stimulation en courant continu hyperpolarisant.
5. Cellules non stimulées.

IV DISCUSSION.

1. Limite de validité des résultats.
2. Critique des méthodes statistiques d'exploitation.
3. L'intensité des stimulations.
4. L'influence du temps sur l'efficacité des stimulations.
5. Modes d'action du courant.
6. Corrélations possibles entre les effets du DC imposé et les courants physiologiques corticaux.

V CONCLUSION ET RESUME.

|                 |                                                                                                                        |                            |  |
|-----------------|------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|----------------------------|--|
| <u>Annexe 1</u> | Tableaux des résultats                                                                                                 | DC <sup>+</sup>            |  |
| <u>Annexe 2</u> | " " "                                                                                                                  | DC <sup>-</sup>            |  |
| <u>Annexe 3</u> | " " "                                                                                                                  | des cellules non stimulées |  |
| <u>Annexe 4</u> | Tableau d'analyse de variance à 3 facteurs contrôlés.<br>Organigrammes.<br>Listing du programme.<br>Exemple numérique. |                            |  |
| <u>Annexe 5</u> | Test de linéarité                                                                                                      | ) Exemples numériques      |  |
|                 | Régressions polynômiales                                                                                               |                            |  |

BIBLIOGRAPHIE.





## I - TECHNIQUES ET METHODES.

On envisagera successivement le protocole expérimental, l'appareillage et les différentes méthodes utilisées pour le traitement des données.

### PROTOCOLE EXPERIMENTAL ET APPAREILLAGE.

#### 1. La préparation.

##### 1.1. Choix de l'animal.

Nous avons le choix entre le chat et le lapin. Des considérations liées à la difficulté d'approvisionnement de celui-là, et certaines exigences expérimentales nous ont amenés à choisir le lapin.

Le cortex lisse de ce dernier, nous permet d'éviter les difficultés de pénétration d'électrodes dues aux sillons. Il favorise en particulier une reproductibilité plus fidèle d'enregistrement d'une expérience à l'autre.

Contre ce choix, nous pouvons opposer l'extrême fragilité du cortex de cet animal aux agressions internes ou externes. Une lésion même minime, entraîne des manifestations pathologiques du type "spreading depression" ou activité épileptique, et par conséquent, variabilité de l'activité unitaire\* enregistrée.

Ce réel inconvénient nous paraît de nature à être exploité favorablement.

En effet, la très forte potentialité de ces manifestations nous dicte une extrême prudence dans nos interventions.

D'une part, les activités corticales, globales et unitaires nous paraissent être, dans ces conditions, une traduction fidèle et permanente de l'état de la préparation en cours d'expérience.

\* Nous entendons, par activité unitaire toutes manifestations électrophysiologiques susceptibles de se produire dans une cellule nerveuse. Potentiel d'action (PA), potentiel de membrane (PM), potentiels post-synaptiques (PPS).



Les expériences ont été pratiquées sur 28 lapins adultes, d'un poids moyen de 2,5 kgs, en préparation aigüe.

Dans un premier temps, on met en place, dans une veine de l'oreille, sous anesthésie locale, un cathéter qui servira aux injections de TRIODOETHYLATE DE GALLAMINE\*.

### 1.2. L'anesthésie.

Parallèlement à l'étude qui fait l'objet de ce travail, ces animaux sont utilisés pour des recherches sur les décharges épileptiques expérimentales.

L'activité électrique cérébrale, pour ces deux thèmes de travail, ne doit en aucun cas subir l'influence d'agents hypnogènes. Nous avons donc éliminé les anesthésies générales de longue durée, et, à fortiori, l'emploi des barbituriques. Nous employons l'éther, le flaxédil, et la ventilation artificielle.

Après la pose du cathéter, l'animal est anesthésié à l'éther pour permettre la mise en place d'une canule trachéale, et sa contention dans l'appareil stéréotaxique.

Tous les points de pression, ou d'intervention, sont infiltrés avec un anesthésique local (Novocaïne 1 ./.).

### 1.3. Contrôle des pulsations.

L'enregistrement de l'activité unitaire, extracellulaire ou intracellulaire, est étudiée pendant une période de temps assez longue. Ceci implique une très bonne stabilisation du cerveau, en particulier le contrôle des déplacements cérébraux qui sont rythmés sur le pouls et la respiration, et qui apparaissent dès que l'on travaille à crâne ouvert.

Plusieurs moyens efficaces sont utilisés :

a) Limitation de l'augmentation de la pression veineuse consécutive à l'inspiration en pression positive de la ventilation artificielle par :

1) Réduction du volume respiratoire courant, ou minimum, par inhalation d'oxygène pratiquement pur en se référant à la table de KLEIMAN et RADFORD.



2) Elimination de l'élasticité de la cage thoracique par la réalisation d'un pneumothorax bilatéral ; la communication avec l'atmosphère libre ainsi le poumon qui joue sans pratiquement repousser la cage thoracique.

b) Cette réduction des variations de la pression veineuse est complétée au niveau de la convexité par :

1) Ouverture d'une voie d'expansion pour le L.C.R., par drainage de la citerne sous occipitale.

2) Le maintien sur le cortex au voisinage du point d'enregistrement d'une très légère pression mécanique par les électrodes de stimulation (cf. 2.3). Mais le meilleur moyen de contrôle est encore fourni par la fermeture de l'orifice de trépanation, restaurant pratiquement les conditions prévalant à crâne fermé (cf. 2.6).

Nous avons en pratique utilisé ces divers moyens simultanément.

#### 1.4. Protection du cortex.

Au moment de l'accès au cerveau, pour les raisons données plus haut (1.1) de nombreuses précautions sont prises pour éviter tous traumatismes par mouvements ou frottements sur le cortex (SMITH et Coll. 1969).

Après repérage stéréotaxique on pratique une craniotomie au-dessus de la région suprasylvienne d'un côté. Avec d'innombrables précautions, la dure mère est ouverte en croix, et rabattue sur l'os, assurant ainsi une protection du cerveau. Dès cet instant le cortex est protégé par une mince couche d'huile minérale tiède, pour éviter les effets d'une éventuelle dessiccation.

A ce stade, une injection de FLAXEDIL est pratiquée. L'animal est placé sous respiration artificielle.





### 1.5. Homéostasie respiratoire.

A ce niveau, le problème peut se poser en termes de choix entre deux risques, dont l'incidence sur l'activité cérébrale n'est pas à négliger.

Il faut éviter le risque d'hypoxie par hypoventilation, mais ceci entraîne le risque d'hypocapnie par hyperventilation.

Le premier est de beaucoup le plus grave, en ce qui nous concerne. Il entraîne une hyperexcitabilité cellulaire, qui peut aller jusqu'à l'apparition d'activité épileptique spontanée (BERESFORD et coll. 1969).

#### 1.5.2. Intérêt d'un contrôle du CO<sub>2</sub> dans les gaz expirés.

Des expériences ont été faites pour essayer de relier la quantité de CO<sub>2</sub> dans les gaz expirés à la réserve alcaline, dans différentes conditions respiratoires. Les résultats montrent une absolue dissociation entre ces deux paramètres (cf. figure 1).

Nous pensons, en fonction de notre expérience, qu'une surveillance systématique du CO<sub>2</sub> dans les gaz expirés, présente un intérêt limité et discutable chez les petits animaux.

Nous avons adopté un système de ventilation en circuit fermé. Les gaz inhalés par l'animal sont un mélange de : oxygène 96 %, CO<sub>2</sub> 4 %. Dans ces conditions nous évitons les risques d'hypoxie et d'hypocapnie. Nous créons cependant une hypercapnie, mais elle n'est pas gênante, puisqu'elle n'a pas de répercussion sur l'activité cérébrale.

La pression de ventilation est lue en permanence sur un manomètre mis en dérivation, à la sortie de la pompe d'assistance respiratoire. Ceci crée un système d'alerte en cas d'obstacles sur le circuit.

### 1.6. Injection permanente de Flaxédil.

Le FLAXEDIL dilué dans de l'eau distillée à raison de 4 mg /ml sera administré en permanence par voie veineuse. Une pompe à petit débit assure une injection de 1,845 ml/h. Cette dose est suffisante pour assurer un excellent relâchement musculaire de l'animal.



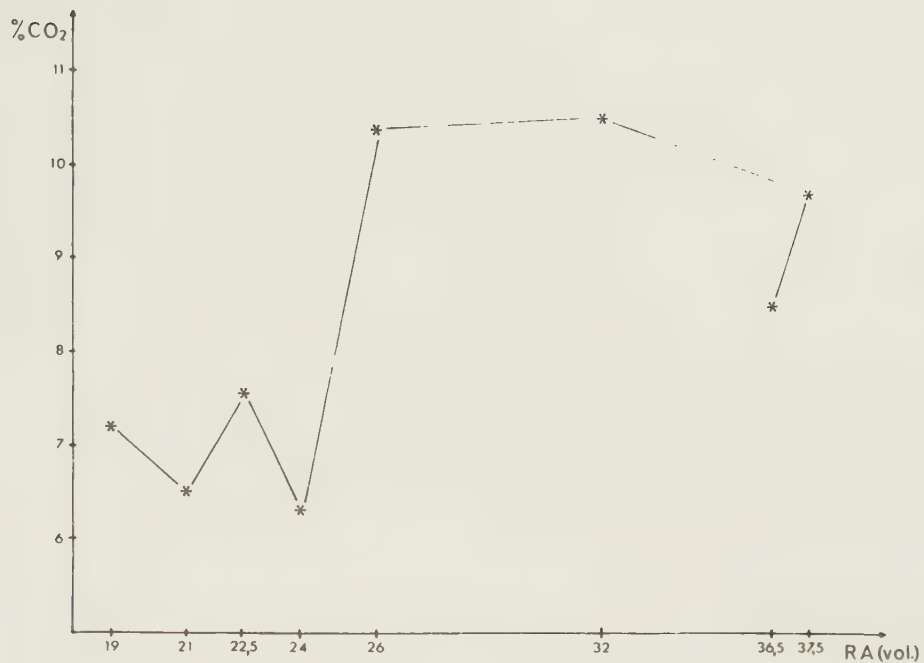


Figure 1

Relation du CO<sub>2</sub> dans les gaz expirés, par rapport à la réserve alcaline sanguine.

La courbe relie les points de mesure dans l'ordre chronologique de l'exécution des prélèvements sanguins.

- La R.A. est exprimée en volumes
- Le CO<sub>2</sub> est exprimé en pourcentage.





### 1.7. Homéostasie thermique.

Un appareil de régulation thermique automatique, par sonde rectale est installé pour toute la durée de l'expérience. Un système de sécurité bloque l'appareil pour ne pas dépasser la température de 39° C.

### 1.8. Conclusion.

Cet ensemble se révèle très efficace pour permettre des expériences de durée supérieure à 48 heures. Les activités corticales sont satisfaisantes, sans activité pathologique, avec alternance de veille-sommeil.



## 2. Les électrodes.

### 2.1. Les électrodes corticales.

Ces électrodes corticales sont destinées à enregistrer l'activité qui sera exploitée pour un travail complémentaire. En outre elles nous permettent, à chaque instant, de juger de la qualité de l'activité corticale globale (cf. 1.1. - 1.3.).

Généralement au nombre de quatre, elles sont constituées par un fil d'argent isolé de 1 mm de diamètre. L'extrémité qui assure le contact avec le cortex est en forme de boule. Cette extrémité est dénudée sur environ 1 mm<sup>2</sup>, et chlorurée (cf. infra 2.4.).

### 2.2. La microélectrode.

Nous nous proposons de faire une analyse, quantitative et qualitative, de l'activité unitaire (cf. note 1.1.).

D'une part, le spectre des fréquences des événements électrophysiologiques à enregistrer est différent.

D'autre part, nous voulons stimuler les neurones en faisant passer une certaine quantité de courant continu par la microélectrode.

Ceci impose l'emploi de la micropipette de verre, et élimine l'utilisation des microélectrodes de métal.

#### 2.2.1. Préparation des micropipettes.

Ces électrodes sont faites à partir d'un tube de verre (Corning) de diamètre externe de 2 mm.

La tireuse est à traction verticale du type de celle décrite par ALEXANDER et NASTUK (1953). Le réglage des différents paramètres (traction magnétique - chauffage), permet d'obtenir les formes désirées (BOISSEAU et BOISTEL 1965).

Une fois étirées, ces micropipettes sont remplies d'alcool par aspiration sous vide et chauffage (TASAKI et Coll. 1954).



Dans un deuxième temps les micropipettes (M E), sont remplies avec une solution de KCL 3M, ou citrate de soude 2M, par aspiration, ou diffusion passive. Le pH des solutions est voisin de 7 (BOISSEAU 1965).

#### 2.2.1.1. Mesure de l'impédance de la M E

Nous nous proposons d'étudier expérimentalement les potentiels électriques créés par les générateurs corticaux. Ces potentiels n'ont pas la même amplitude, ni le même spectre de fréquence.

Le spectre de fréquence de ces potentiels peut être compris, entre la fréquence nulle, c'est-à-dire courant continu, (potentiel de membrane, par exemple) et 1000 Hz pour les potentiels d'action (P.A.).

Pour capter ces événements nous employons la micropipette (cf. 2.2.).

Cette dernière cependant, possède au moins deux propriétés physiques dont chacune va jouer un rôle particulier sur la forme du signal.

Schématiquement on peut dire que :

- a) La partie résistive de la M E joue un rôle "favorable" sur le signal, en ce sens qu'elle ne le déforme pas.
- b) La partie capacitive, liée à la jonction métal-solution, joue un rôle "bénéfique", différentiateur, sur les événements rapides (P.A.).
- c) Des capacités parasites importantes, liées à l'électrode et à son montage, jouent un rôle "nuisible", en court-circuitant les phénomènes rapides.

Il convient d'apprécier d'abord les effets résistifs, et les effets capacitifs nuisibles ; c'est le but de la mesure d'impédance. Ensuite, il faut combattre les effets capacitifs ; c'est le rôle de la neutralisation négative de capacité.

#### 2.2.1.2. Mesure de résistance de la M E par du courant continu (DC).

La mesure de la résistance par du DC, permet de tester surtout, la partie résistive de la M E

La valeur obtenue ne donne une information que pour le courant continu, c'est-à-dire la fréquence nulle. (cf. 2.2.1.1.).





Autrement dit, le test porte sur l'aptitude du capteur à passer le DC, ou les tensions lentement variables à l'exclusion des autres.

Cette méthode ne répond donc que très partiellement à nos exigences.

#### 2.2.1.3. Mesure de l'impédance de la M E par du courant sinusoïdal.

Les mesures faites en courant alternatif, apportent une bonne connaissance de l'impédance de la M.E , pour diverses fréquences correspondant aux différents signaux électrophysiologiques à enregistrer. Cependant, ces mesures sont longues et fastidieuses. Elles ne présentent qu'un intérêt limité, du fait de la difficulté d'interprétation, quand on veut en déduire la réponse impulsionnelle.

En raison de sa complexité de réalisation cette méthode ne doit se limiter qu'au domaine de l'expérimentation physique des paramètres. Elle ne peut guère être utilisée en routine.

#### 2.2.1.4. Mesure de l'impédance de la M E par la méthode impulsionnelle

LEE (1967) a montré que le spectre de puissance d'une impulsion de largeur T, est étalé sur la gamme de fréquences comprise entre 0 et  $\frac{1}{T}$  (cf. fig. 2A).

En choisissant une impulsion de largeur (1 mS), la plage de fréquences à tester au niveau de la microélectrode, sera très largement couverte (cf. fig. 2B).

On peut tester, à partir des fronts de montée de la réponse impulsionnelle, l'aptitude de la M E à passer les phénomènes rapides, et sur la forme des plateaux, son aptitude à passer des phénomènes lents.

On peut de plus apprécier rapidement les non-linéarités de l'ensemble milieu-M E , en testant la symétrie de la réponse pour des impulsions de polarité opposée.



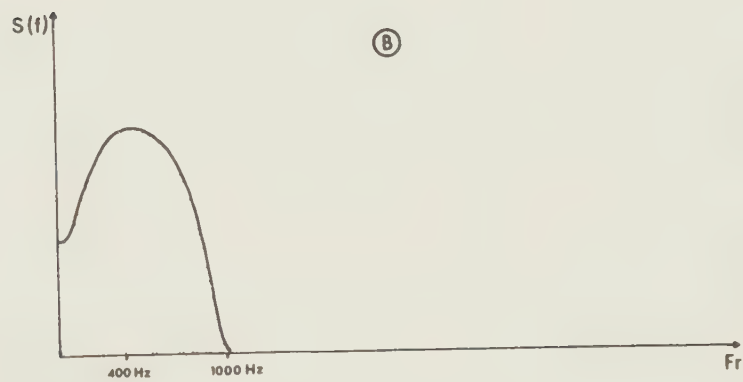
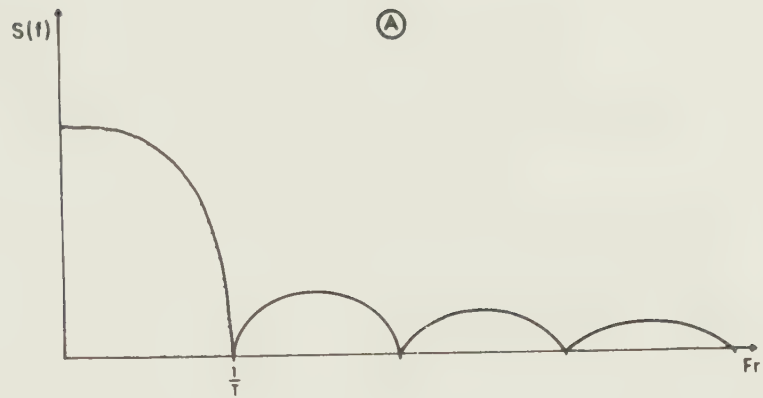


Figure 2

A. Spectre de puissance d'une impulsion de (T) mSec de durée.

-  $S(f)$  : densité spectrale de puissance

-  $\frac{1}{T}$  : période

-  $Fr$  : fréquence en KHz

B. Allure d'un spectre de puissance d'un P.A.



Pour nos expériences nous ne retenons que les électrodes dont la partie résistive est comprise entre 10 et 20 M  $\Omega$  , et pour lesquelles la linéarité est correcte (cf. supra). Tout ceci implique un choix sévère.

Du point de vue pratique, les mesures peuvent s'effectuer très rapidement, à n'importe quel moment de l'expérience. Cette possibilité est à notre avis très intéressante. Le facteur variation de l'impédance, surtout au moment des micro-stimulations, devient en quelque sorte pondérable. Ceci enlève un certain degré d'incertitude quant au résultat.

### 2.3. L'électrode de stimulation corticale.

Cette électrode servira, à déclencher des activités de décharges épileptiques, et permettra l'activation de l'activité unitaire évoquée.

C'est une électrode tripolaire, constituée par trois fils d'argent de 300 microns de diamètre, chlorurés à leur extrémité. Chaque pôle est distant d'environ 300 microns. L'ensemble est noyé dans de la résine, formant à la base une sorte de pied d'environ 10 mm<sup>2</sup> (photo 3). Cette électrode offre deux avantages :

- a) Mise en contact avec le cortex, du fait de sa surface relativement importante, on peut limiter localement les pulsations corticales (cf. 1.3).
- b) Chaque pôle, est connecté à une borne d'un potentiomètre, et à un commutateur à neuf positions. Pour une position privilégiée de l'un et de l'autre, on arrive à neutraliser efficacement l'artéfact de stimulation corticale (VASTOLA 1959).

### 2.4. L'électrode de référence.

Il s'agit d'un fil d'argent de 2,5 cm de long et de 500 microns de diamètre. Toutes les électrodes d'argent sont chlorurées selon la méthode de GEDDES et Coll. (1969).







Photo 3

Photo montrant la disposition des électrodes d'enregistrements sur le cortex. La craniotomie est obturée par de la gélose.

Schéma de détail.

- 1. 2. 3. 4. électrodes corticales
- 5. électrodes de stimulation tripolaire, servant aussi de "pied presseur".
- 6. micropipette (M E )

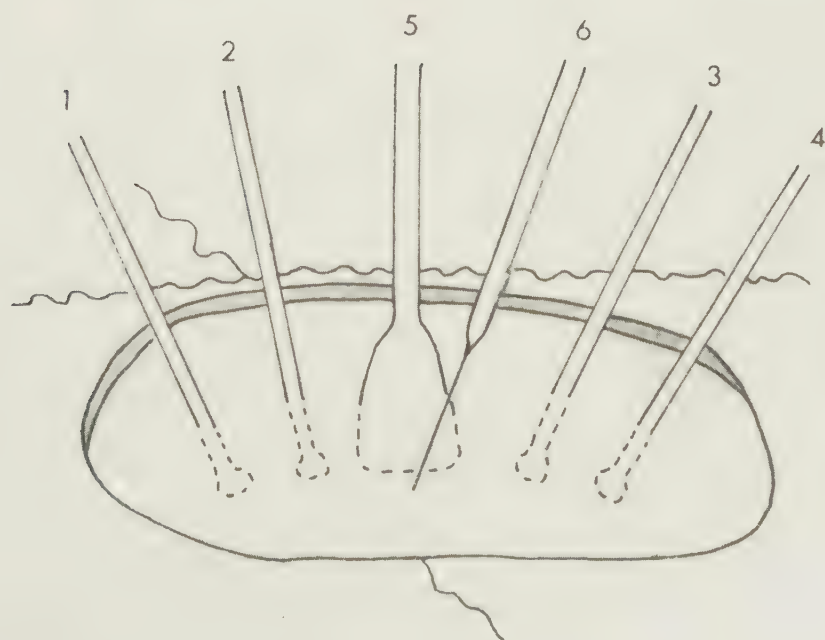


Figure 3



Cette électrode est mise à un endroit "électriquement neutre", et ne subissant pas de dessiccation. Pour ces raisons, nous la mettons de préférence dans une masse musculaire de la nuque. Ceci nous paraît être autorisé du fait de la curarisation de l'animal.

## 2.5. Mise en place des électrodes.

La mise en place des électrodes sur le cortex est chronologiquement la suivante :

- a) on positionne en premier lieu l'électrode de stimulation, en l'appuyant légèrement sur le cortex. La pression doit rester faible pour ne pas perturber la circulation piaie, et, ne pas créer une lésion (cf. 1.1. - 1.4.).
- b) la mise en place des électrodes corticales s'effectue avec les mêmes précautions. Leur position peut varier d'une expérience à l'autre ou en cours d'expérience.

### 2.5.1. Mise en place de la microélectrode.

La M E est placée aussi près que possible du pôle central de l'électrode de stimulation. Cette position s'avère très importante. D'une part, pour avoir la plus grande réponse lente physiologique due au choc cortical (cf. infra), et la meilleure réponse unitaire. D'autre part, pour obtenir une meilleure neutralisation de l'artéfact de stimulation corticale.

### 2.5.2. Contact microélectrode - cerveau.

La M E est mûe par un micromanipulateur mécanique. Elle est descendue doucement, jusqu'au moment où s'effectue le contact électrique avec le cortex, ou du moins avec le film liquidien qui le recouvre. Ce contact sera le zéro de référence, à partir duquel, on pourra apprécier le niveau de profondeur de l'enregistrement unitaire.



Ce contact électrique est visualisé sur un appareil de mesure en série dans le circuit. Au moment où l'électrode touche le cerveau, l'appareil accuse une brutale déviation. Cette déviation correspond à la différence de potentiel entre l'électrode de référence et la M.E. Cette tension de contact est compensée par le système C (fig. 4).

## 2.6. Enregistrement en chambre fermée.

Quand toutes les électrodes sont en place, que le bon fonctionnement de l'ensemble a été vérifié, la craniotomie est obturée (cf. 1.3 - photo 3).

Nous employons pour cela, une solution d'AGAR-AGAR à 4 ./. dans du sérum physiologique (GREEN et Coll. 1960), ou une préparation à base de cire d'abeille, dérivée de celle décrite par BURNS et MANDL (1968). Les proportions sont les suivantes : cire d'abeille 15 ./. , cire d'histologie 15 ./. , huile de vaseline 70 ./.

Dès son application la solution se gélifie rapidement assurant ainsi une obturation étanche.

## 3. Matériel de stimulation.

### 3.1. La stimulation corticale.

Les impulsions nécessaires pour effectuer les chocs corticaux sont délivrées par un stimulateur GRASS S4.

L'impulsion est diphasique pour limiter les risques de polarisation de l'électrode de stimulation.

La durée des impulsions est généralement de 0,1 mS à 0,2 mS.

Aucune tentative n'a été faite pour évaluer l'intensité du courant, traversant la préparation au cours d'un choc cortical. Nous adopterons donc le volt pour déterminer l'importance du choc, et le seuil d'apparition des réponses. Le voltage appliqué dépendra surtout de la profondeur de la pointe de la M.E. par rapport à la surface stimulée.





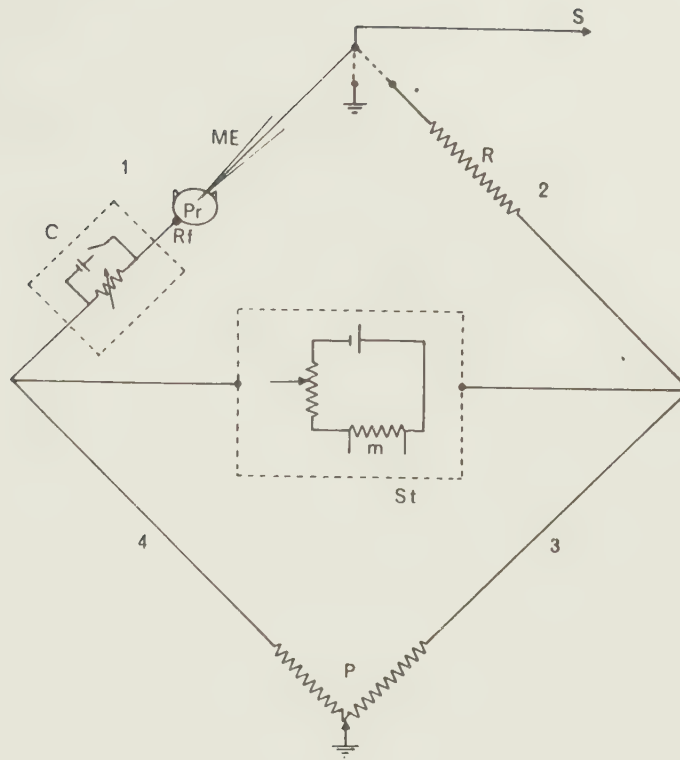


Figure 4

Schéma du dispositif pour la stimulation en DC.

c : dispositif pour compenser la tension de contact entre la M.E. et la référence.

st : dispositif qui délivre le courant nécessaire à la microstimulation

m : mesure de ce courant

R : résistance de  $10^9$  ohms.

P : potentiomètre de réglage du Pont de WHEATSTONE

ME : micropipette

Pr: préparation

Rf: électrode de référence

S : sortie du dispositif

1. 2. 3. 4. : branche du pont.



### 3.2. La microstimulation en courant continu.

On peut effectuer cette stimulation en dissociant les électrodes ; une électrode qui injecte le courant, l'autre qui recueille les activités cellulaires. Cette technique pose de nombreux problèmes pour le découplage électrique et pour la réalisation technique.

Nous utilisons un montage en pont de WHEATSTONE, dérivé de celui décrit par FRANK et FUORTES (1956). Dans ces conditions, nous pouvons enregistrer et stimuler par la même M.E. sans perturber l'enregistrement (cf. fig. 4).

La tension de stimulation est délivrée par l'ensemble (St). Une résistance dans le circuit, permet d'obtenir une chute de potentiel proportionnelle (m), qui amplifiée, est enregistrée sur la dérivation 8 du polygraphe. Un réglage adéquat de (P) du dispositif permet d'éliminer les artéfacts dus à la stimulation (DC), à l'exception, des artéfacts d'ouverture et de fermeture du circuit (St).

## 4. Le matériel d'enregistrement.

### 4.1. Problèmes de captation de l'activité unitaire.

L'activité électrique unitaire captée par la M.E., doit subir "un traitement électronique", avant d'être amplifiée et répartie sur les différents appareils enregistreurs.

Du fait des particularités électriques de ces signaux, et des moyens pour les capter, on va se heurter à un certain nombre de difficultés techniques.



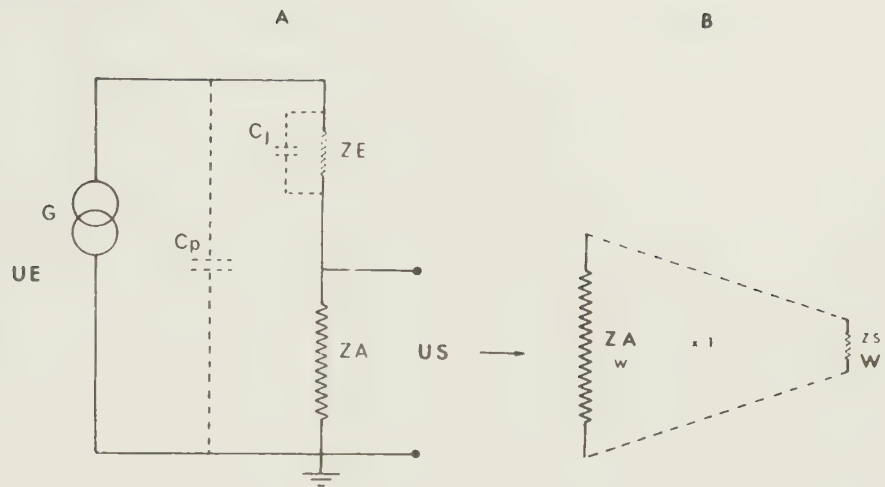


Figure 5

A. Schéma électrique équivalent aux impédances mises en jeu

B. Schéma figuré de l'abaissement de l'impédance et de l'amplification en puissance.

G : générateur

$C_p$  : capacités parasites

$C_j$  : capacité jonction métal-solution

$Z_E$  : résistance d'électrode

$Z_A$  : résistance d'entrée du BAK

$U_E$  : tension d'entrée

$U_S$  : tension de sortie

$Z_{Aw}$  : impédance d'entrée élevée, puissance faible

$z_{sw}$  : impédance de sortie faible, puissance élevée

$x 1$  : gain unitaire de tension.





#### 4.1.1. Abaissement de l'impédance de la microélectrode.

Généralement très élevée cette impédance (ZE) est toujours de plusieurs mégohms (10 à 50).

En regard de la résistance d'entrée de l'amplificateur (ZA), on va réaliser un véritable atténuateur de tension (cf. fig. 5A). par exemple, si ZA est du même ordre que ZE, l'atténuation correspondante est de  $\frac{1}{2}$ . Il faut donc que le facteur atténuation soit négligeable si on veut obtenir l'amplitude totale du signal enregistré. Ceci implique que ZE soit négligeable devant ZA, dans ces conditions ZA devra être très élevé (plusieurs milliers de mégohms). Ces exigences satisfaisantes, l'atténuation est négligeable.

Notre étage d'entrée (BAK 1958) fournit une très haute impédance d'entrée ( $10^{10}$  ohms), pratiquement infinie, et une sortie (ZS) sous basse impédance (1000 ohms).

Le gain en tension est unitaire. Par contre, cet étage fournit un gain en puissance considérable. On peut donc parler d'étage amplificateur de puissance à très haute impédance d'entrée (cf. fig. 5B).

La mise en série de ZE + ZA (cf. fig. 5A), va entraîner l'apparition de capacités parasites rapportées à la terre. Elles vont se révéler très nuisibles pour le signal (P.A.).

Ceci représente la deuxième difficulté contre laquelle il faut lutter. C'est le but de la neutralisation des capacités parasites.

#### 4.1.2. Neutralisation des capacités parasites.

Le problème qui se pose ici est de trouver un artifice technique, permettant de régénérer les signaux rapides atténués par les capacités parasites.

Pour cela, on fait appel à une contre-réaction positive. On prélève une partie du signal à la sortie de l'amplificateur A (fig. 6). Ce signal passe à travers une capacité (C) de très faible valeur, qui ne laisse passer que les phénomènes rapides (P.A.), et on l'applique au point (P), de manière à charger partiellement cette capacité parasite (CP).



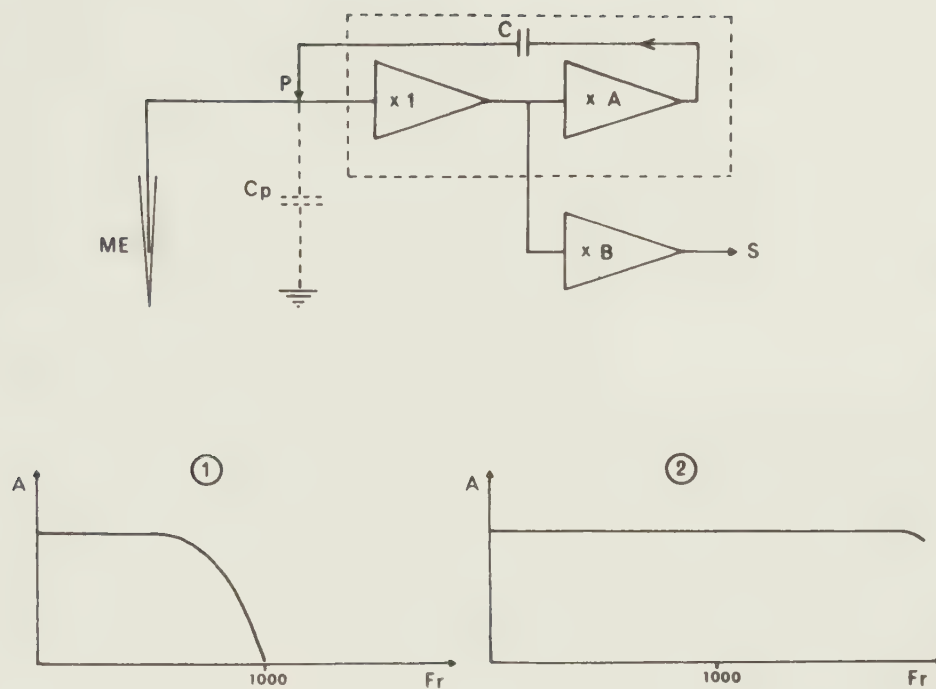


Figure 6

Schéma de principe de la neutralisation des  $C_p$ .

ME : microélectrode

$C_p$  : capacité parasite

$\times 1$  .  $\times A$  : BAK

B : amplificateur ( $\times 100$ ) de l'activité unitaire

S : sortie

I : courbe de réponse amplitude-fréquence avant la correction

II : courbe de réponse amplitude-fréquence après la correction.



Pour un réglage adéquat de (A), tout se passe comme si la (CP) n'existait plus. Dans ces conditions, les signaux rapides "vus" par l'amplificateur (E), auront une amplitude normale.

Comparer les courbes (I) avant compensation et (II) après compensation (fig. 6). Un certain nombre de précautions peuvent être prises pour limiter l'influence des (CP), et des parasites ambiants.

#### 4.1.3. Protection contre les parasites.

Nous avons vu que l'ensemble impédantiel  $ZE + ZA$ , introduisait du fait de sa très grande valeur des (CP) (cf. fig. 5). De plus, il constitue une véritable antenne pour les parasites ambiants qui viennent s'ajouter aux signaux biologiques et perturber l'enregistrement.

Il existe deux moyens efficaces de se prémunir.

##### 4.1.3.1. Dimension du fil de liaison.

Le fil de connexion qui relie la M E à l'entrée de notre amplificateur est très court (quelques cm).

##### 4.1.3.2. Blindage et cathode suiveuse.

L'ensemble électrode-fil de liaison est protégé par un blindage, mais celui-ci est relié à la cathode du tube d'entrée. De ce fait, le signal d'entrée est appliqué en phase sur le blindage. Ceci revient à créer une "ambiance électrique" qui suivra toutes les variations du signal.

##### 4.1.4. Le courant grille.

La liaison directe de la préparation-microélectrode à la grille du tube d'étage d'entrée suppose quelques risques qu'il faut connaître, et auxquels il faut remédier.



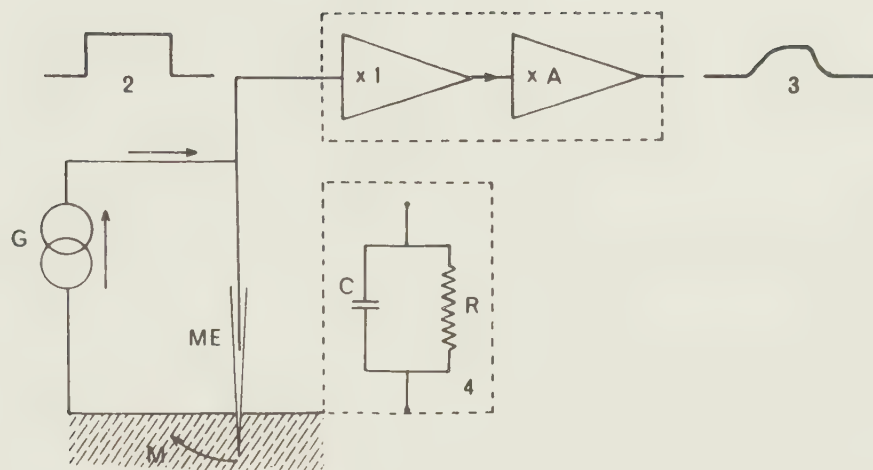


Figure 7

Schéma de principe de la mesure par impulsions.

$G$  : générateur de courant

$ME$  : microélectrode

$M$  : milieu

$xI$  .  $xA$  : BAK

$2$  : impulsion d'entrée

$3$  : impulsion de sortie déformée

$\left\{ \begin{array}{l} C : \text{représente toutes les capacités parasites } C_p \\ R : \text{représente la résistance de la microélectrode} \end{array} \right.$





Notre amplificateur abaisseur d'impédance a un courant grille très faible de l'ordre de  $5 \times 10^{-12}$  ampères.

Bien que la valeur absolue de ce paramètre soit un problème de construction, il n'est cependant pas stable, et peut varier dans certaines proportions. Il faut par conséquent le vérifier avant chaque expérience. Or, on sait qu'une cellule nerveuse est sensible à des courants de l'ordre de  $1 \times 10^{-9}$  A., on voit qu'un courant grille mal réglé peut réaliser une véritable stimulation à l'insu de l'expérimentateur.

On peut se demander si l'activité cellulaire anormalement riche, et cependant non pathologique, décrite par certains auteurs, ne serait pas la conséquence d'une microstimulation par courant grille non contrôlé.

#### 4.1.5. Technique de la mesure d'impédance d'électrode par la méthode impulsionnelle.

On peut schématiser le dispositif de mesure d'impédance de la M E par impulsion (BAK 1958), comme il est montré sur la figure 7.

##### 4.1.5.1. Principe.

Ce système comporte un générateur de courant (G), qui envoie des impulsions de courant (2) entre la microélectrode (ME), et le milieu (M). De cette manière, on mesure à la sortie de la ME, la différence de potentiel (d.d.p.) créée par l'impulsion de courant (2) traversant l'impédance microélectrode-milieu.

La réponse obtenue (3) a approximativement la forme suivante :

- a) une montée lente du type exponentiel.
- b) une partie descendante du même type.

Un schéma électrique équivalent permettant d'obtenir une telle réponse est figuré en 4 (fig. 7). Ce schéma ne traduit pas nécessairement la configuration électrique réelle de la microélectrode, mais il a une valeur en tant que modèle. Il possède en fait, la même fonction de transfert. En modifiant la courbe de réponse d'amplitude, par le système de compensation décrit, il est possible de donner à l'ensemble ME-amplificateur une fonction de transfert globale. Elle permet de restituer au signal sa forme initiale (front de montée rapide).





Figure 8

Dispositifs d'enregistrements : DIRECTS (Dt) et DIFFERES (Df)

ME : micropipette

P : préparation

SC : stimulation corticale

SU : stimulation unitaire DC

B : abaisseur d'impédance BAK

x100 : amplificateur TEKTRONIX 122

H : horloge : enregistreur magnétique et papier

G : polygraphe GRASS à 8 dérivations

T : trigger (transformation des P.A. en impulsions)

S : amplificateur son

EM : enregistreur magnétique REVOX

SC : oscilloscope TEKTRONIX 502

C : caméra

I : intégrateur

Be : enregistreur magnétique BELIN

E : enregistreur papier ELEMA

$V_1$  : vitesse normale d'enregistrement (19 cm/S.)

$V_2$  : ralentissement 1/16 de la vitesse initiale ( $V_1$ )

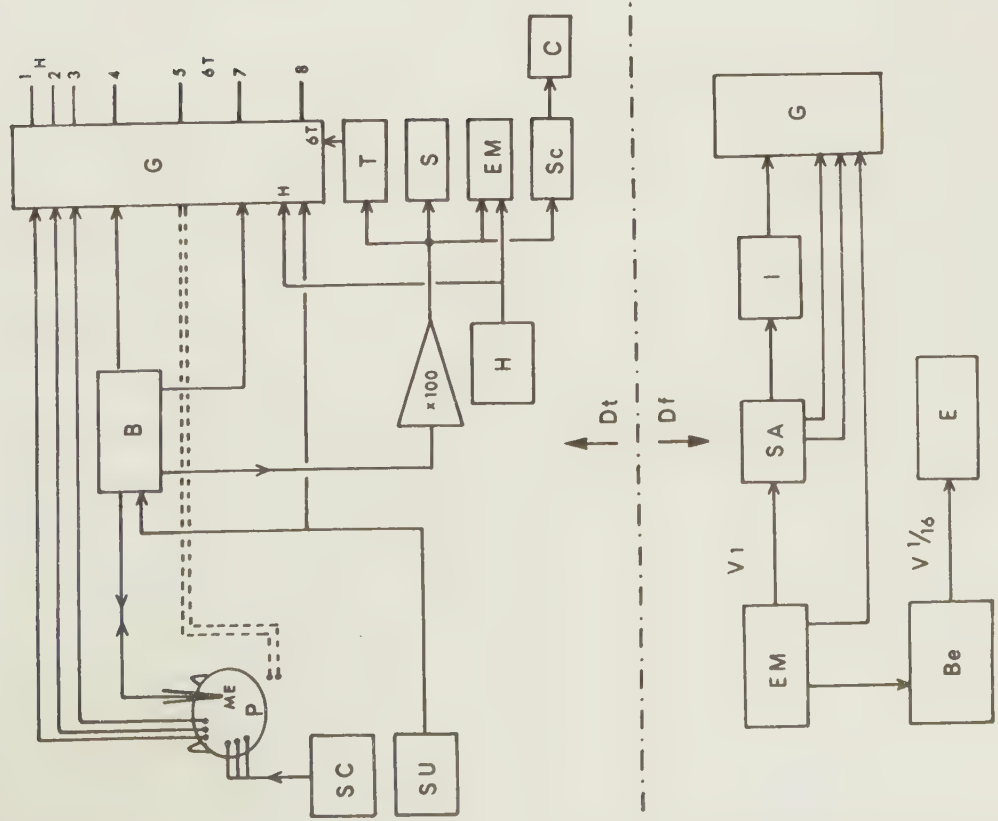
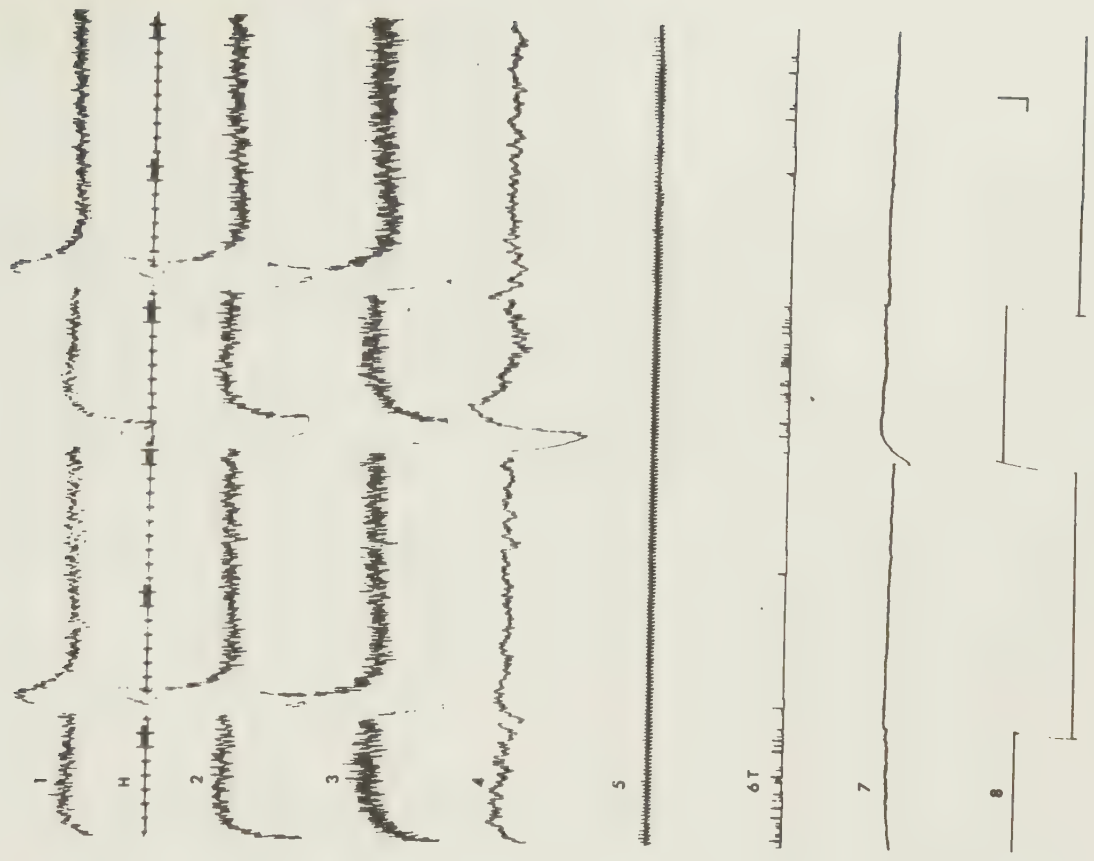
= : électrode E.K.G.

SA : sélecteur d'amplitude

Figure 8 bis

Exemple de tracé montrant la répartition des activités électriques, et des différents marquages sur le polygraphe. (cf. également tableau I).

Figures 8 et 8 b







#### 4.1.5.2. Critique.

Nous n'avons pas trouvé une façon de travailler plus correcte. Il faut cependant remarquer que la M E n'a pas la même fonction de transfert, suivant qu'il s'agit du signal test que nous venons de définir, ou qu'il s'agit de l'activité électro-physiologique cellulaire.

Une partie des éléments capacitifs de la M.E. (cf. fig. 5), amortissent le signal test, mais différentient le signal physiologique (cf. 2.2.1.1.b.).

On risque de compenser exagérément la courbe de réponse aux fréquences élevées.

Nous avons combattu les effets nuisibles des CP sur le signal à enregistrer, de manière à pouvoir considérer la ME comme une résistance simple.

#### 4.1.6. Amplification de l'activité unitaire.

Après avoir été régénérée par compensation des CP, après avoir testé l'impédance ME-milieu, l'activité unitaire doit être amplifiée avant d'être répartie sur les différents appareils enregistreurs (cf. fig. 8).

Cette opération est assurée par un amplificateur TEKTRONIX 122.

Habituellement les paramètres utilisés sont les suivants :

gain x 100. Constante de temps 1 S. Filtre 10 KHz.

A la sortie de cet amplificateur, le signal est envoyé sur un panneau de distribution.

#### 4.2. L'enregistrement direct.

En cours d'expérience notre but est l'acquisition des données, et la conservation de celles-ci, dans les meilleures conditions possibles. Pour cela, différents moyens sont mis en oeuvre (cf. fig. 8).



#### 4.2.1. L'enregistrement sur papier.

L'appareil, est un polygraphe GRASS à huit dérivations. Une voie supplémentaire est réservée uniquement aux différents marquages et au temps. Ce dernier, est compté par une horloge, qui délivre un top par seconde.

Le tableau I et la figure 8 bis, indiquent la répartition des activités enregistrées sur le polygraphe.

Le tracé est le document de base, sur lequel sont synchronisés tous les enregistrements :

- TABLEAU I -

| Dérivations | Affectations                                                                           |
|-------------|----------------------------------------------------------------------------------------|
| 1. 2. 3.    | Dérivations électrocorticographiques<br>(en montage bipolaire le plus souvent)         |
| 4           | Potentiels dérivés de la microélectrode.<br>(amplificateur grand gain type RC)         |
| 5           | Electrocardiogramme                                                                    |
| 6           | Dérivation recevant les P.A. transformés en impulsions. (Trigger SCHMITT) durée 4 mS.  |
| 7           | Potentiels continus, ou lents, dérivés par la M.E.<br>(amplification continue type DC) |
| 8           | Mesure des microcourants de stimulation.                                               |



#### 4.2.2. L'enregistrement magnétique.

L'enregistrement des P.A. sur papier, au détriment d'une perte d'information, ne permet qu'une appréciation approximative de cette activité.

Pour notre travail, il est très important d'enregistrer intégralement cette activité dans le but de traitements ultérieurs.

Pour cela, nous employons un enregistreur magnétique à modulation d'amplitude. Il s'agit d'un REVOX à deux voies, dont la bande passante est de 40 à 18 000 Hz à + 2 et -3 dB.

Une voie sert à l'enregistrement de l'activité cellulaire, l'autre, aux commentaires, et au repérage.

Une horloge couplée avec le REVOX, délivre un top d'une seconde toutes les dix secondes. Ce top de repérage est enregistré :

a) sur la dérivation commentaire du REVOX.

b) sur la voie marquage du polygraphe (H).

Ces tops sont numérotés par un compteur, chaque numéro est reporté sur le papier et sur le commentaire.

Ces dispositions permettent un repérage facile et précis pour les lectures ultérieures.

#### 4.2.3. L'enregistrement sur oscilloscope.

Notre appareil est un oscilloscope TEKTRONIX 502, double faisceaux et entrées symétriques. En réalité, cet appareil sert surtout à la visualisation permanente de l'activité unitaire, et à la relecture immédiate de l'activité enregistrée sur le REVOX.

#### 4.2.4. Enregistrement sur films.

Des séquences d'activité sont quelquefois filmées en cours d'expérience.



Pour cela, nous utilisons une caméra type Cathomatic ALVAR. Cet appareil est couplé en permanence avec l'oscilloscope décrit ci-dessus. Un dispositif de miroir semi-réfléchissant permet à la fois la visualisation et l'enregistrement sur film, de l'activité. Quand il s'agit de l'activité de P.A., on utilise un modulateur de brillance. Ceci offre l'avantage de diminuer le halo dû au bruit de fond de l'activité, et renforce la luminosité sur les fronts rapides des signaux.

#### 4.2.5. Enregistrement sonore.

Les P.A. tombent dans la gamme des fréquences audibles, et leur amplification ne pose aucun problème technique.

La possibilité de pouvoir "entendre les P.A." est intéressante, car il semble que souvent l'ouïe discrimine mieux certaines modifications d'activités. C'est un complément utile de la visualisation sur oscilloscope.

#### 4.3. L'enregistrement différé.

Il représente le premier stade du traitement des données acquises en cours d'expérience.

Le traitement des P.A. peut s'envisager de deux façons : analyse quantitative, analyse qualitative.

Dans ce travail, nous insisterons essentiellement sur l'analyse quantitative. Il faut donc mettre l'activité de P.A., sous forme de données numériques (cf. fig. 8 Df).

##### 4.3.1. Traitement de l'activité unitaire.

L'activité unitaire telle qu'on la recueille à la sortie des enregistreurs magnétiques présente, une variabilité en amplitude et en fréquence. De plus, différents artéfacts ont été enregistrés.





Il faut d'une part, reconnaître et éliminer les artéfacts, pour qu'ils ne soient pas pris en compte. D'autre part, il faut mettre sous forme d'impulsions calibrées chaque P.A.

#### 4.3.1.1. Sélecteur d'amplitude à deux niveaux.

L'entrée de cet appareil comporte un amplificateur, un filtre accordé sur la fréquence des P.A., et un système de bascule à deux seuils ( $S_1 - S_2$ ). Chaque seuil est réglable indépendamment.

Le seuil  $S_1$  est réglé sur l'amplitude moyenne des P.A.

Le seuil  $S_2$  est réglé à une valeur légèrement supérieure à  $S_1$ .

Deux cas peuvent se présenter (cf. fig. 9 et fig. 10) :

a) le P.A. franchit  $S_1$ , et seulement celui-ci, deux impulsions seront délivrées.

Une impulsion de durée 1 mS., destinée à l'intégrateur.

Une impulsion de durée 4 mS., destinée à une voie du polygraphe.

b) un évènement P.A. plus ample que l'amplitude moyenne affichée sur  $S_1$ , ou artéfacts se présentent à l'entrée de l'appareil.

Ils franchissent d'abord  $S_1$ , puis  $S_2$ . Dans ces conditions, seule l'impulsion de 4 mS. (une impulsion par évènement) sera délivrée, pour objectiver ce fait sur une seconde voie du polygraphe.

Par conséquent l'intégrateur ne recevra pas d'impulsion.

On voit que seuls les P.A., dont l'amplitude a été sélectionnée en  $S_1$  seront comptés (cf. fig. 10 Aac 2 et 10 Babc 2), à l'exception de tous autres évènements (cf. fig. 10 Ab 2 . 3).

#### 4.3.1.2. Intégration.

L'intégrateur délivre en sortie, une tension proportionnelle à la surface de l'évènement d'entrée. Ceci par opposition au convertisseur fréquence-tension, qui réalise une "pseudo-intégration".



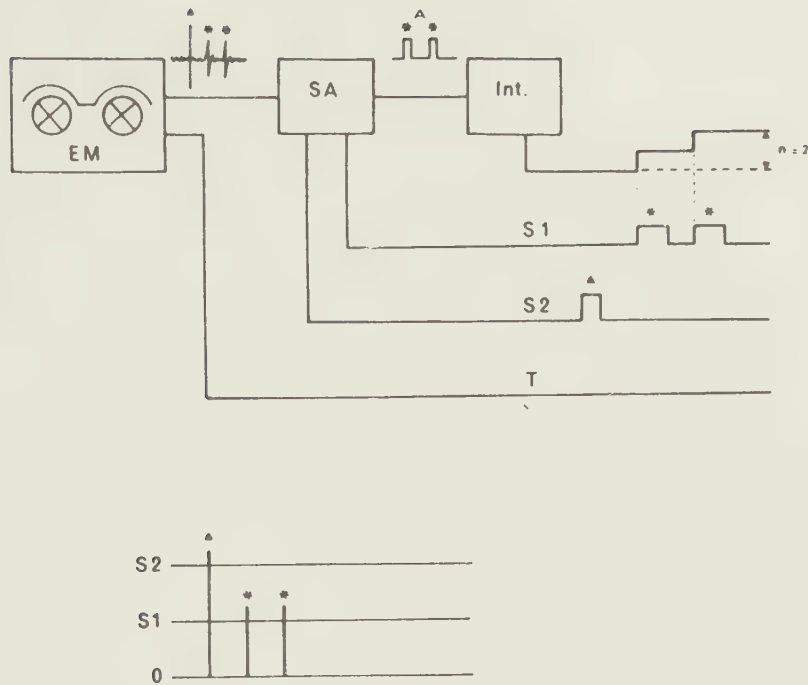


Figure 9

Schéma de principe de l'intégration de l'activité unitaire.

EM : enregistreur magnétique

SA : sélecteur d'amplitude

Int : intégrateur

A : impulsions de 1 mSec

$S_1$  &  $S_2$  : impulsions de 4 mSec

T : repère temps 1 top de 1" toutes les 10"

▲ : artéfact franchissant  $S_1 + S_2$  . compté 0 sur  $S_1$   
compté 1 sur  $S_2$

\* : 2 P.A. franchissant  $S_1$  seulement . comptés sur  $S_1$

- Sur 3 événements deux seulement sont intégrés  $n = 2$ .





## Figure 10

Enregistrement différé.

1 = seuil 1 ( $S_1$ ).      2 = intégration.      3 = seuil 2 ( $S_2$ ).

4. P.A. traités par la méthode ralentissement - jet d'encre.

Microstimulation en courant continu : a) avant . b) pendant . c) après.

A. Exemple de changement d'amplitude en cours de stimulation (b)

$S_1$  est réglé sur l'amplitude moyenne des P.A. (Aa 4). tous les P.A. sont intégrés (Aa 2).

Les P.A. augmentent d'amplitude (Ab 4),  $S_1$  et  $S_2$  sont franchis.

Les P.A. ne sont pas intégrés (Ab 2), et les impulsions passent sur  $S_2$  (Ab 3).

En fin de stimulation (Ac), les P.A. reprennent leur amplitude normale, même processus qu'en (Aa).

Seuls, les artéfacts franchissant  $S_1$  et  $S_2$  sont vus en (Aac 3) et ne sont pas comptés.

B. Exemple de modulation de l'activité unitaire par courant dépolarisant  
 $I = 2 \times 10^{-12}$  Ampères

Comparer (b) à (c). Dans ce cas l'amplitude des P.A. reste stable.

Noter à nouveau la présence en (b3) et (c3) l'apparition d'impulsions correspondant à l'artéfact de début et de fin de stimulation.

### Calibration

AB 4 = 0,1 sec. et 5 mV

AB 2 = 2 sec. par époque et dix P.A. par cm

C 302 - L 116

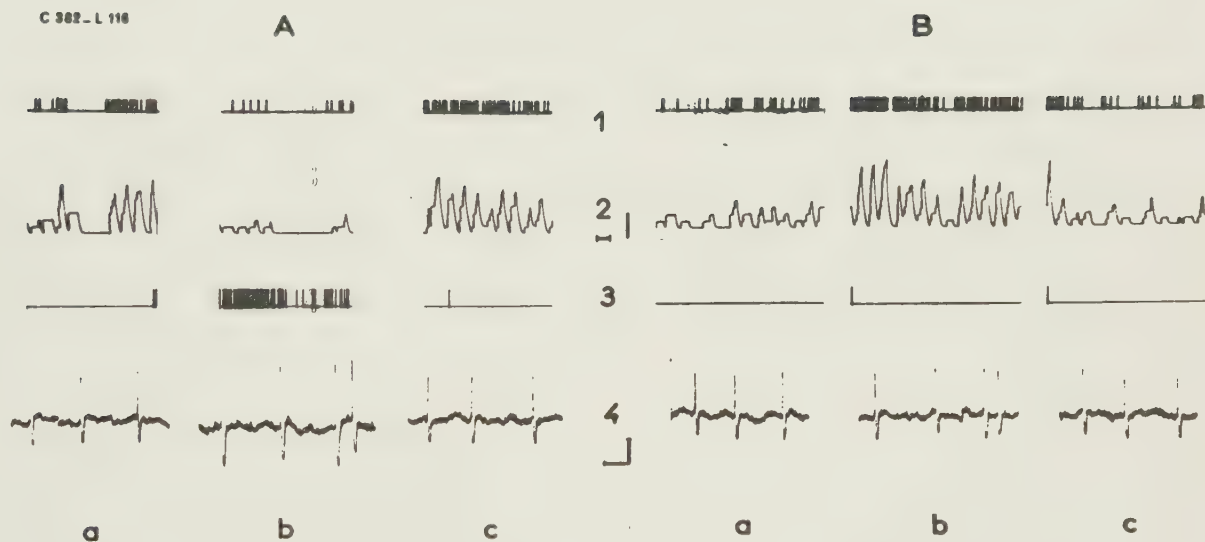


Figure 10





Le temps d'intégration peut varier entre 1 et 10 secondes. La remise à zéro s'effectue par une horloge interne. Si l'horloge n'est pas utilisée, on peut intégrer pendant un temps infini. Le calibrage est fait à partir d'un générateur d'impulsions externe. Pour des raisons de commodité, la calibration est généralement de 10 P.A. par cm.

#### 4.3.1.3. Comptage.

Quand l'activité a été intégrée, il suffit de mesurer l'amplitude de chaque époque d'intégration, et de consigner le résultat dans un tableau.

Cette méthode a été préférée au comptage digital pour deux raisons :

- a) l'affichage digital est beaucoup trop rapide et se prête mal à un relevé manuel des résultats.
- b) notre méthode permet une transcription intégrale sur papier. Il est facile de superposer cet enregistrement sur le tracé initial, et de juger d'éventuelles corrélations entre activité unitaire, ainsi traitée, et activité globale.

#### 4.3.2. Le ralentissement.

Ce travail porte essentiellement sur l'aspect quantitatif de l'activité unitaire. Il est cependant intéressant de posséder des informations sur une éventuelle modification de forme (durée d'amplitude), de l'activité unitaire soumise aux microstimulations.

A partir de l'enregistrement initial, l'activité, les différents repères, sont réenregistrés à la vitesse de 76 cm/S., sur un enregistreur magnétique BELIN, en modulation de fréquence.

La lecture se fait à 4,75 cm/S. Ceci réalise un ralentissement de 16 fois.

#### 4.3.3. Enregistreur papier à jet d'encre.

Cet appareil, ELEMA à trois dérivations, possède du fait de la très faible inertie de ses inscripteurs, une bande passante performante, 0 - 500 Hz à 0 dB, contre 80 Hz pour un enregistreur classique.



D'autre part, les distortions curvilignes n'existent pas, de plus on a une très bonne linéarité sur une course de 5 cm. La vitesse d'enregistrement est de 10 cm/S.

Si l'on tient compte du ralentissement (16 fois), on peut dans ces conditions enregistrer sur papier les P.A. dans d'excellentes conditions. Cet artifice permet pratiquement d'étendre la bande passante de l'enregistreur papier de 0 - 500 Hz à 0 - 8000 Hz à 0 dB !

#### 4.3.4. Le film.

Il est rare , que le film pris en cours d'expérience, dans nos conditions satisfasse aux exigences d'une analyse de forme. Sauf dans certains cas particuliers, nous ne cherchons pas dans ce but, à prendre du film en cours d'expérience.

Secondairement, à partir de la bande magnétique, on peut sélectionner les séquences remarquables et les filmer.

Cependant pour atteindre les performances de la méthode de ralentissement, il faudrait prendre les films à la vitesse de 1 m/S. Ceci implique des difficultés techniques et financières non négligeables. Donc, la solution ralentissement est préférée.

#### 4.3.5. Conclusion.

Les techniques que nous venons d'exposer ne sont, certes pas, parfaites.

Néanmoins, dans le choix que nous avons fait, nous avons essayé à tous les niveaux, de supprimer ou de minimiser toutes les causes d'erreur susceptibles d'avoir des répercussions sur les résultats expérimentaux.



## II - METHODES STATISTIQUES D'EXPLOITATION DES DONNEES

### 1. Position du problème.

Dans les conditions physiologiques qui seules nous intéressent ici un neurone cortical n'est jamais au repos ; il reste toujours soumis à un bombardement synaptique permanent d'intensité variable. Il peut certes ne présenter aucun potentiel d'action visible, mais l'enregistrement intracellulaire montre une instabilité du potentiel de membrane. Mieux que le niveau moyen de polarisation toujours discutable en raison du caractère lésionnel de la ponction membranaire, cette instabilité objective ce bombardement (ECCLES 1964), (GRUNDELST, a.), (CREUTZELDT 1966) et traduit cette activité "de base", souvent appelée spontanée. Nous conserverons ce terme impropre mais usuel pour désigner l'activité de PA observée en l'absence d'interventions extérieures intentionnelles.

L'activité neuronale de PA, enregistrée au cours de micro-stimulations électriques présente pour cette raison une grande variabilité dont une partie seulement est en relation avec les effets du courant. Chercher à préciser ceux-ci à partir de mesures isolées ne peut donc être que vain ou trompeur ; un travail statistique s'impose. S'il n'a pas été tenté jusqu'ici par ceux qui ont abordé cette question (BRINDMANN et Coll. 1964), (GERIN et COURJON 1962), (SPEHLMANN et KAPP 1964), (STRUMWASSER et ROSENTHAL 1960), c'est sans doute en raison des difficultés qui vont apparaître successivement au cours de ce travail.

#### 1.1. Les répétitions.

Pour recueillir nos données selon un plan expérimental adapté à l'exploitation statistique, nous pouvions choisir entre deux approches.

L'une consistait à effectuer sur chaque neurone rencontré une suite unique de mesure liée à une seule intensité de courant ; dans ce cas les répétitions correspondent alors à des neurones différents.



L'autre consistait à appliquer à chaque neurone plusieurs stimulations successives d'intensités différentes, ou de même valeur, qui constituent les répétitions.

Chaque solution a ses inconvénients. La seconde répète la stimulation sur le même neurone, avec tout ce que cela comporte d'inconvénients. La première introduit un élément de variation plus considérable et moins contrôlable. En effet les neurones réagissent inégalement aux stimulations notamment en fonction de la position relative de la microélectrode de stimulation par rapport à la cellule. En outre ils ont une activité spontanée très inégale, donc l'estimation de la fréquence moyenne de repos serait également assortie d'une variance considérable. Enfin il faudrait un très grand nombre de neurones stimulés. Ce bilan nous a été révélé par une expérimentation préalable (GERIN et COURJON 1962), GERIN et QUOEX résultats non publiés.

Nous avons donc préféré la solution de l'étude individuelle de neurones au cours de stimulations répétées, mais en nous attachant à faire ressortir l'influence de ces répétitions.

## 1.2. Les facteurs.

### 1.2.1. L'intensité de la stimulation.

L'activité spontanée des potentiels d'action est-elle modifiée par l'application d'un courant ? Dans quel sens se fait cette modification en fonction de sa polarité, et dans quelle mesure en fonction de son intensité ?

Nous regroupons ces questions complémentaires sous le terme de l'influence du "facteur intensité", I.

### 1.2.2. Le temps à court terme.

La réponse cellulaire à la stimulation évolue-t-elle en fonction du temps, et comment pendant la stimulation et après son interruption ?

Nous appelons ce facteur temps "temps à court terme", t, pour le distinguer du suivant.







### 1.2.3. Le temps à long terme.

Les répétitions, ou séries de stimulations, s'échelonnent au cours d'un temps plus ou moins important. Pour éviter l'emploi de termes interprétatifs, tels que "vieillissement", "lésion", "apprentissage", et pour souligner qu'il ne s'agit pas de simples répétitions au sens statistique habituel nous avons préféré parler ici de "temps à long terme", T.

## 1.3. La variable.

### 1.3.1. Le choix de la variable.

Il est possible de prendre comme variable soit la fréquence instantanée, c'est-à-dire travailler sur les intervalles de temps séparant chaque P.A., soit la fréquence moyenne, c'est-à-dire sommer les PA pendant une durée déterminée.

### 1.3.2. La fréquence instantanée.

Pour traiter les intervalles de temps individuels il faut travailler en ligne avec l'ordinateur. En effet la manipulation d'un nombre extrêmement élevé de données, dans ce cas, ne peut s'effectuer que de cette façon.

Nous avons abandonné cette solution. Au moment de l'expérimentation, les programmes nécessaires n'étaient pas au point.

D'autre part l'intérêt pour nous est d'établir un bilan comparatif avec des résultats publiés, mais traités par une approche différente. Or dans ces résultats la variable est toujours la fréquence moyenne.

### 1.3.3. La fréquence moyenne.

Prendre comme variable la fréquence moyenne, c'est-à-dire remplacer cette variable élémentaire par sa moyenne, implique évidemment une perte d'information.

Mais celle-ci nous semble pouvoir être consentie si on en précise la portée.



L'activité de PA spontanée se présente en effet sur un mode irrégulier, avec une tendance plus ou moins marquée à regrouper les PA en salve ; ceci tient à leur processus de déclenchement par les potentiels synaptiques, et à la durée particulière de ceux-ci au niveau des neurones corticaux. On peut alors estimer schématiquement que la fréquence moyenne capte seulement les modulations à moyen terme de l'activité, et perd l'information concernant l'organisation intime de cette activité (pattern).

Prendre cette fréquence moyenne comme variable revient donc à négliger délibérément l'influence éventuelle des stimulations sur cette organisation particulière de l'activité neurale. Il faut y ajouter la perte de toutes informations concernant les stades tout à fait initiaux de la stimulation.

Tel est donc le choix que nous avons fait, portant notre intérêt sur les seules modulations à moyen terme de la richesse de l'activité unitaire. La finesse de l'analyse repose sur la durée des tranches de temps sur lesquelles sont établies les fréquences moyennes.

#### 1.3.4. Mesure de la variable.

Il est fréquent lorsqu'on cherche à préciser l'effet d'une stimulation en fonction de l'intensité de celle-ci, de mesurer la variable physiologique en valeur relative par rapport à sa valeur de repos prise comme référence, plutôt qu'en valeur absolue (MOUNCASTLE<sup>T</sup> et Coll. 1963).

Nous n'avons pas adopté cette approche pour deux raisons :

L'une est théorique. Le rapport de deux variables aléatoires gaussiennes ne se distribue pas lui-même selon la loi normale.

Pour passer outre il aurait fallu montrer qu'en pratique, dans notre cas, l'hypothèse de distribution normale ne pouvait être refusée ; or nous le verrons le nombre de données recueillies en cours de stimulation et utilisable dans ce but restait, pour chaque cellule, insuffisant pour permettre des conclusions nettes.

L'autre raison est d'ordre pratique : la plupart de nos cellules n'avaient aucune activité spontanée avant la stimulation.



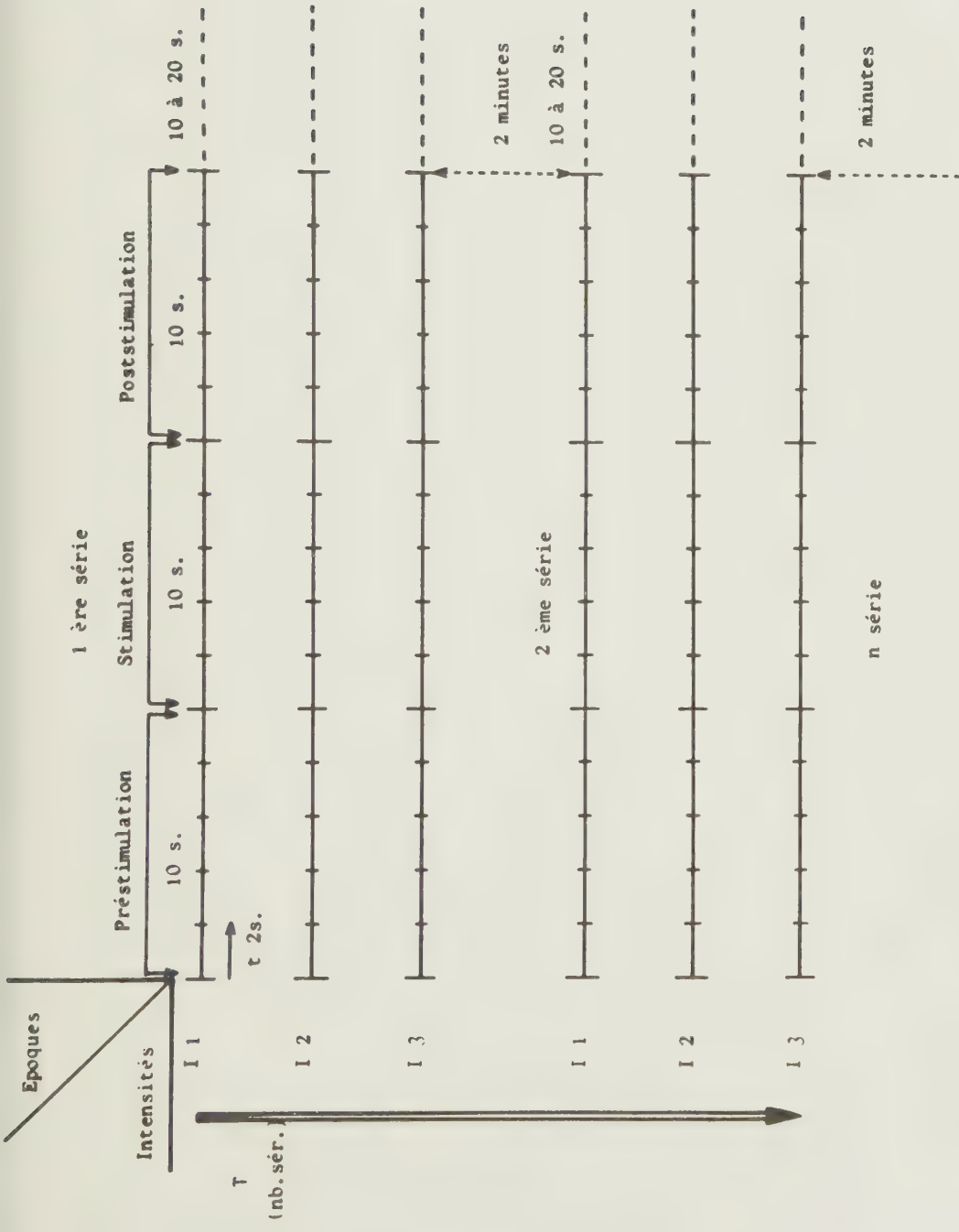


Figure 11

Protocole des stimulations en courant continu positif et négatif.  $I_1$ ,  $I_2$ ,  $I_3$  représentent les intensités de valeurs croissantes,  $t$  l'échelle de temps de la période de sommation des PA,  $T$  le temps à long terme qui comprend les périodes de préstimulation, stimulation, poststimulation et les périodes d'attentes. Ces dernières sont symbolisées par un trait interrompu. Dans le cas d'une stimulation avec une intensité de même valeur,  $I_1$ ,  $I_2$  ... deviennent  $T$ .



## 2. Les tests statistiques.

### 2.1. La distribution.

Les auteurs qui ont exploité l'activité cellulaire de PA à travers une approche comparable à la nôtre, quoique dans des problèmes différents, ont en général utilisé délibérément des tests soit paramétriques (HOBSON et CARLEY 1971), soit non paramétriques, sans chercher à vérifier le caractère de la distribution.

Désireux de recourir à des analyses de variance, bien adaptées à nos questions, nous avons donc cherché à vérifier si la distribution de notre variable ne s'opposait pas à ce choix et, si sa transformation éventuelle ne permettait pas de la rendre plus acceptable.

Pour cela nous avons pu disposer de deux types de données. D'une part, l'activité de repos des cellules observées entre les stimulations successives ; d'autre part, l'activité spontanée de cellules témoins, non stimulées.

Dans le premier cas l'application est directe puisque la même cellule est ensuite étudiée pendant et après les stimulations ; mais le nombre de données reste limité, comme nous le verrons à propos du plan expérimental. En outre ces phases de repos succèdent toutes en fait, à une stimulation précédente plus ou moins éloignée (cf. fig. 11).

Dans le second cas la conclusion est acquise sur des bases numériquement meilleures, mais il faut l'étendre aux cellules stimulées.

En raison de ces limitations pratiques à la réponse susceptible d'être apportée à cette question, nous nous sommes contentés de vérifier les points suivants : symétrie de l'histogramme, aspect de la courbe de l'histogramme cumulé, construction systématique de la droite de Henri. Par contre nous n'avons pas estimé utile de pratiquer des tests  $\chi^2$ .

On pourrait s'attendre à priori à ce que la variable choisie, résultat d'un comptage par unité de temps, suive plutôt une loi de POISSON. Nous avons donc systématiquement comparé la variance et la moyenne, qui seraient alors égales, et effectué une transformation de variable. Ceci nous permettait de voir si la distribution revêtait d'avantage une apparence normale. Cette transformation était du type classique en  $|x + c|$ , en prenant pour  $c$  une valeur de 0,5, en raison de valeurs nulles de  $x$ .







## 2.2. Choix des types de tests.

Nos résultats nous le verrons, ne s'opposent pas à l'hypothèse de normalité. Nous avons dû par conséquent recourir à des analyses de variance et tests de régressions.

## 2.3. L'analyse de variance.

Chacune des mesures effectuées,  $X_i$ , dépend de multiples facteurs ; nous devons chercher à en individualiser le plus grand nombre possible pour réduire la part de la variabilité, résiduelle,  $X_r$ , que nous devons bien appeler aléatoire faute de n'y plus rien distinguer de précis.

Nous avons déjà défini les facteurs intensité (I), temps à court terme (t), temps à long terme (T). Il est possible que ces facteurs interagissent ; on peut donc dégager en outre autant d'interactions du premier ordre (I x t, I x T, t x T), et en principe une interaction du second ordre (I x T x t). Celle-ci ne peut cependant être calculée ici. Nous l'avons vu précédemment (cf. 1.1.) nous ne pouvons disposer de répétitions effectuées dans des conditions identiques : elles impliqueraient toujours, en fait, un facteur temps susceptible d'intervenir.

Le tableau de données ne peut donc comprendre qu'une valeur par case, et il n'est plus possible de calculer cette interaction du deuxième ordre.

D'autres facteurs devraient par contre pouvoir être isolés. Ainsi l'activité électrocorticale globale varie, ces variations étaient limitées dans notre contexte expérimental ; cependant elles restaient appréciables au cours de l'observation d'un seul neurone et inévitables, en raison notamment de l'impossibilité, dans le laboratoire utilisé, de travailler en enceinte insonorisée.

Or, on sait que l'activité neuronale est reliée à l'E.E.G. à des degrés divers (EVARTS et Coll., 1961), (EVARTS, 1964), (SCHERRER et BENOIT, 1966), (CALVET et CALVET, 1968).

Cela ne serait encore pas un inconvénient si l'on pouvait isoler ce facteur, donc déterminer la part Keeg de chaque  $X_i$ . Nous n'avons pas pu y parvenir faute de pouvoir dégager un ou plusieurs indices permettant de quantifier simplement l'activité E.E.G. dans ce qu'elle a de corrélé avec l'activité unitaire.



C 382

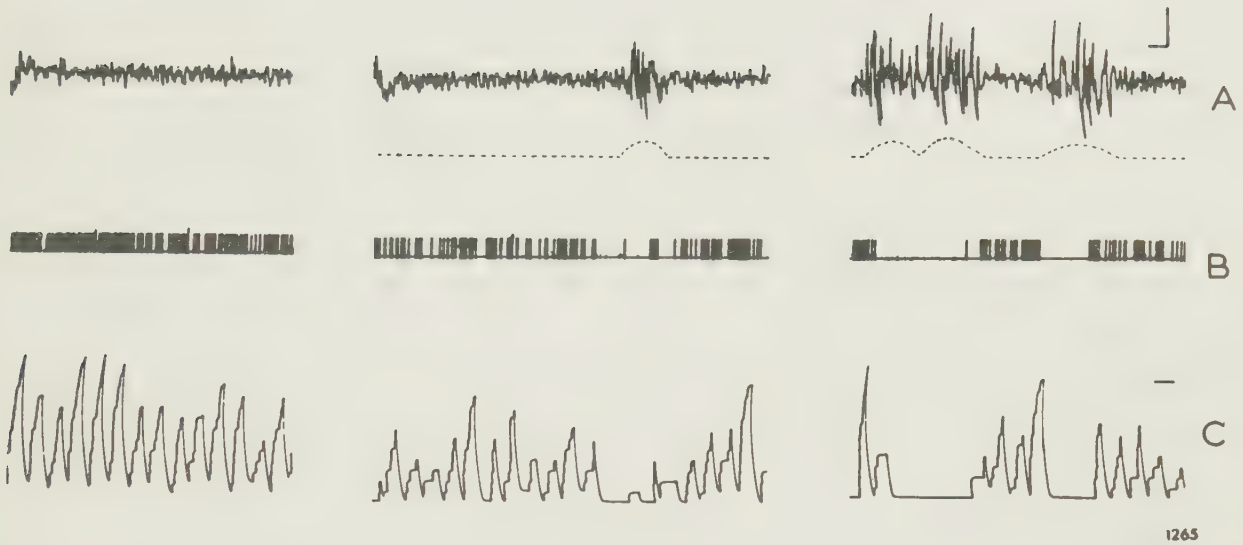


Figure 11 bis

Exemple illustrant des modifications de la fréquence cellulaire en fonction du niveau de vigilance.

A. Activité E.C.G. Calibration 1 S - 250 uV

B. PA transformés en impulsions

C. PA intégrés Calibration 2 S.





Cela est d'autant plus regrettable que dans certains cas la corrélation, à défaut d'être quantifiée, est subjectivement évidente. Elle semble rendre compte alors de l'impossibilité de dégager des conclusions significatives, ce qui témoigne de l'importance de ce facteur. (cf. fig. 11 bis).

Nous en restons donc à un maximum de trois facteurs individualisables seulement, avec leurs interactions du premier ordre.

Ceci nous conduit évidemment à utiliser comme test de base des analyses de variance, et à organiser chaque plan expérimental pour isoler le plus grand nombre possible de ces facteurs.

Pour pouvoir appliquer ces analyses de variances, il faudrait encore théoriquement s'assurer de l'invariance de la variance ; si elle n'était pas respectée les comparaisons de variances seraient faussées. En pratique le test de BARTLETT est rarement utilisé. Nous nous sommes autorisés à nous en passer, compte tenu de la relative stabilité des intervalles de confiance sur l'ensemble de nos graphiques.

Nous verrons plus loin quelles analyses sont plus précisément applicables dans chaque cas. Nous détaillons en annexe la plus utilisée ; l'analyse de variance à trois facteurs avec interactions appliquée ici de manière un peu particulière.

#### 2.4. La comparaison de moyennes.

La comparaison globale des moyennes entre les époques de repos et de stimulation peut être faite au cours d'une analyse de variance générale. Mais la nécessité de limiter les tableaux de données, en raison de la capacité de la machine utilisée, nous a amené à lui préférer une simple comparaison de moyennes par un test t effectué à partir des résultats partiels fournis par les autres analyses.

Dans ce cas particulier nous avons en outre systématiquement comparé les variances par un test F, pour vérifier si la comparaison de moyenne était autorisée. Souvent en effet elle ne l'était pas. Ceci n'est pas contradictoire avec la remarque précédente sur l'invariance de la variance ; il s'agissait là d'une même condition expérimentale (comparaisons  $\alpha$  cours de la période de stimulation, ou de la période de repos), et ici de conditions différentes (comparaison de périodes de stimulations et de périodes de repos).



## 2.5. Etudes des graphiques et régressions.

### 2.5.1. Les graphiques.

Notre objectif initial étant de définir le mieux possible la relation éventuelle présidant à l'influence sur la fréquence de PA des divers facteurs étudiés, nous avons d'abord effectué systématiquement les graphiques correspondants.

Pour les interpréter nous les avons complétés par :

a) Les intervalles de confiance qui sont calculés en fonction d'un risque d'erreur  $\alpha = 0.05$ . Ce calcul est fait à partir de la variance propre à l'échantillon correspondant à chaque niveau et non à partir de la variance résiduelle de l'ensemble, c'est-à-dire avec un nombre de données très faible.

b) La plus petite différence significative (PPDS) qui est calculée entre moyennes successives pour divers risques  $\alpha$ . Dans ce cas nous avons pris comme estimateur de la variance de la population la variance résiduelle de l'analyse de variance. Selon la formule  $|\bar{x}_1 - \bar{x}_2| \geq t_{\alpha} \times \frac{1}{\sqrt{S_{e x}^2 \frac{2}{n}}}$

(n est le nombre d'individus de chacun des deux échantillons, qui sont ici égaux).

c) Chaque fois que le facteur étudié était impliqué dans une interaction, nous avons surtout pris en considération l'examen case par case des tableaux présentant l'évolution des moyennes (d'un facteur en fonction d'un autre). Dans ce cas nous avons également calculé la PPDS entre cases. Nous n'avons cependant pas mis sous forme graphique la famille des courbes correspondantes.

d) Enfin nous avons systématiquement soumis l'appréciation subjective générale de la forme de la courbe à des tests de régressions.

### 2.5.2. Test de linéarité.

Nous avons effectué à la suite de l'analyse de variance le calcul classique du test de linéarité, pour l'appliquer systématiquement au cas de la relation entre l'intensité de la stimulation et les modifications conséquentes de l'activité cellulaire. (cf. annexe).



Cependant nous l'utilisons en fait au titre de "test de non linéarité" pour apprécier le caractère significatif ou non des régressions non linéaires.

Or à ce titre, ce test manque de puissance ; si la variance résiduelle reste par trop importante ces régressions n'émergent pas. Nous avons donc cherché à aller un peu au-delà.

a) Nous avons d'une part tenté de réduire cette variance résiduelle. Pour cela nous l'avons calculée au cours d'une analyse de variance individualisant le maximum de facteurs et d'interactions. Ceci a été effectué en pratique lors d'une répétition du test, dans le cadre d'une analyse polynômiale (cf. 2.5.3.).

b) Pour vérifier en outre si cette variance résiduelle était encore trop importante nous avons enfin effectué une contre épreuve ; nous avons répété le même test après transformation des données. Nous avons choisi la transformation logarithmique  $\log |x + c|$  où  $c = 1$  pour les mêmes raisons que précédemment (cf. 2.1.). C'est elle en effet qui le plus souvent s'avère susceptible de rendre linéaire la relation entre stimulation et réponse. Il est certain qu'une telle transformation est contestable dans son principe puisqu'elle modifie la distribution de la variable ; mais le test est considéré habituellement comme assez robuste pour autoriser cette manoeuvre. Or nous verrons que généralement cette transformation, dans notre cas, ne modifie pas les conclusions du test, du moins tant qu'on l'applique à la variable dépendante.

Les résultats négatifs de cette contre épreuve illustrent le danger qu'il y aurait à accepter de courir le risque inverse en retenant l'hypothèse de linéarité. Nous avons donc cherché à étayer l'hypothèse de linéarité sur d'autres éléments.

a) Nous avons calculé systématiquement le coefficient de corrélation linéaire. Mais il s'agit là d'un indice d'une interprétation délicate. En effet il n'est pas toujours certain que la liaison entre deux variables soit pure ; elle peut être due à une autre variable ignorée qui se manifeste à cette occasion.





b) Nous avons surtout calculé le seuil théorique d'efficacité du courant, obtenu en prolongeant la droite jusqu'à son intersection avec la valeur de repos de l'activité cellulaire. Ceci constitue donc une extrapolation de la relation jusqu'aux valeurs de stimulation les plus faibles, situation rarement rencontrée.

Cependant au cas où l'hypothèse de linéarité serait exacte pour l'ensemble de la courbe, l'erreur liée à cette extrapolation devrait être bien moindre que celle qui se révélerait si cette hypothèse était erronée. Le seuil théorique ainsi défini, peut alors être comparé, compte tenu des limites de son intervalle de confiance, avec les données effectivement observées sur la même cellule lors des essais préliminaires à des stimulations. De cette comparaison découle donc une confirmation, ou infirmation indirecte de l'hypothèse de linéarité. En d'autres termes les calculs doivent recouper la réalité expérimentale.

### 2.5.3. Les régressions polynômiales.

Pour tous les facteurs étudiés nous avons cherché quelle fonction polynômiale rendait compte au mieux des courbes observées. La méthode que nous avons utilisée dans un but de simplification a été celle de la décomposition en polynômes orthogonaux (cf. annexe).

Ceci impliquait pour nos plans expérimentaux le recours à une incrémentation régulière des intensités de stimulation. Par ailleurs nous n'avons considéré que les termes jusqu'au troisième degré inclusivement. Ils se sont en effet avérés suffisants pour rendre compte de l'essentiel de la variance en relation avec le facteur étudié. Les termes de degré supérieur sont pour nous peu utiles puisque nous ne sommes pas capables de les interpréter.

Pour chaque coefficient enfin, nous avons précisé les limites de son intervalle de confiance pour un risque  $\alpha = 0.05$ .

Ceci nous a permis ainsi de retenir et d'interpréter certaine forme de courbe, et particulièrement lors de l'étude du temps à court terme.





### 3. Les plans expérimentaux.

#### 3.1. Données générales.

L'organisation générale de nos plans expérimentaux par blocs, découle des types de répétitions (cf. 1.1.) ou des tests (cf. 2.) que nous avons retenus. Dans le détail, il a fallu cependant en dessiner plusieurs successivement pour répondre correctement aux questions posées ; ceci en raison des contraintes pratiques liées à notre propre matériel expérimental.

La première est la limitation du temps pendant lequel peut être étudiée une cellule soumise à de telles stimulations, en raison du caractère lésionnel que peut provoquer soit la proximité de l'électrode, soit le passage du courant dans la cellule. Il reste en outre nécessaire de contrôler systématiquement l'apparition d'un tel effet lésionnel et de s'assurer la possibilité d'une délimitation ultérieure de l'échantillon exploité (cf. 3.5.).

L'autre contrainte est, la faible capacité de la machine sur laquelle nous avons effectué les calculs statistiques, compte tenu du langage que nous avons utilisé (cf. 5.1.).

#### 3.2. Dessin du plan.

Nous avons fait alterner périodes de stimulation et périodes de non stimulation. Celles-ci ont été assez longues pour que leur dernière partie puisse être considérée comme une période de repos.

Pour cela une expérimentation préalable a été effectuée ; elle a montré que les effets d'une stimulation précédente ne sont généralement plus visibles au delà d'une durée de dix à vingt secondes après son interruption. En outre ce point a été systématiquement vérifié pour chaque cas.

Ce découpage a donc abouti à la succession d'époques dites de préstimulation, de stimulation, et de post-stimulation qui se suivent sur une même ligne dans le tableau de données initial (cf. fig. 11). Ces époques ont été ensuite regroupées pour être étudiées successivement ; ce regroupement étant effectué différemment suivant le type de question posée.



### 3.2.1. Choix de l'unité de temps.

Le choix de l'unité de temps selon laquelle était établie la fréquence moyenne a été fait par essais successifs. Il fallait objectiver au mieux les modulations d'activité auxquelles nous avions décidé de nous intéresser, et cela dans des conditions d'activité très diverses puisque :

- 1° Le niveau d'activité spontanée est très inégal ;
- 2° Les stimulations peuvent être d'effet opposé selon la polarité du courant.

Ces essais préalables nous ont conduits à retenir la valeur de deux secondes (t).

### 3.2.2. Détermination de la durée optimum de stimulation.

Nous avons cherché dans un premier temps quelle durée il fallait choisir pour les périodes de stimulation. Les prolonger risquait d'augmenter leur éventuel effet lésionnel, et en tout cas de réduire le nombre de répétitions dans le temps de vie utile de la cellule ; les abrégé pouvait ne pas laisser aux phénomènes d'habituation le temps de se manifester.

Nous avons étudié cette question préliminaire à travers un plan très simple où les différentes lignes ou blocs correspondaient à des intensités identiques. Cette intensité a été choisie de telle manière à produire des effets nets sur la fréquence cellulaire, donc de valeur supérieure au seuil ; elle n'a jamais atteint une valeur critique.

Les durées de stimulation ont été effectuées selon une gamme de cinq à soixante secondes. L'analyse de variance à deux facteurs, sans calcul d'interaction, permettait alors de suivre directement les effets du temps à court terme (facteur colonne ou t), et les éventuelles modifications successives de l'effet global de la stimulation pour diverses répétitions (facteur ligne ou T).

Les graphiques de ces effets globaux pouvaient être discutés également à l'aide des tests de régression. Pour étudier telle ou telle partie de la période de stimulation, un dispositif de bornes était incorporé au programme. On pouvait par exemple suivre l'effet T sur la seule partie en plateau de la stimulation. Ce plan permettait également de suivre le post-effet de la stimulation avec le même programme.



Son exploitation a montré qu'il était possible de limiter à dix ou vingt secondes ces périodes de stimulation. En effet, les informations recueillies nous ont permis de rejeter des durées comprises entre trente et soixante secondes, qui favorisent nettement les effets de lésion cellulaire. Les durées comprises entre vingt et trente secondes n'impliquaient pas l'inconvénient ci-dessus, mais nous obligeaient à retenir un nombre trop important de données. Enfin une durée inférieure à cinq secondes ne permettait pas au courant d'exprimer tous ses effets. Donc la durée de stimulation généralement retenue est de dix secondes ; exceptionnellement de vingt secondes.

### 3.3. Etude globale des stimulations.

#### 3.3.1. Les niveaux des intensités.

Une fois déterminée la durée des époques de stimulation et d'interstimulation, il restait à choisir le nombre de niveaux d'intensités à tester. Nous devons chercher à recueillir au moins trois répétitions de mesures effectuées pour trois intensités différentes. D'une part pour que l'analyse de variance à trois facteurs soit possible ; d'autre part pour que l'on puisse tenter d'apprécier par les régressions l'éventuelle courbure du graphique exprimant la relation entre l'intensité et la fréquence cellulaire. Nous avons adopté comme compromis général, mais non exclusif, de tester quatre niveaux d'intensité, et le maximum de répétitions possibles.

La progression des niveaux devait être régulière pour permettre le recours à la décomposition en polynômes orthogonaux. Nous avons adopté une progression arithmétique de 5 nA.

La plage couverte aurait pû être définie uniformément, mais en pratique nous aurions abouti à ce que de nombreuses données restent inexploitablement en raison de la variabilité inter-individuelle de la sensibilité cellulaire aux courants. Celle-ci s'exprime en fonction de la cellule considérée, et de l'emplacement de l'électrode, à la fois au niveau du seuil d'excitation et de la tolérance au seuil de lésion. Des stimulations faibles seraient restées parfois sans effet, d'autres fortes auraient, au contraire, lésé de façon irréversible certaines cellules, ou même produit une pénétration intra-cellulaire.





Nous avons donc préféré adapter les niveaux de stimulation à chaque cellule pour exploiter et prolonger au maximum son temps de vie. Pour cela nous avons systématiquement cherché, dans un premier temps, l'intensité la plus faible donnant un effet subjectivement appréciable, celle-ci était ensuite prise comme premier niveau. D'autre part nous avons adopté une progression de niveaux régulière, ne dépassant pas l'intensité pour laquelle les PA présentaient des modifications évocatrices de souffrance cellulaire ; ceci nous a obligé, fréquemment, à ne pas dépasser trois niveaux de stimulation.

### 3.4. La casualisation.

Les mêmes constatations nous ont conduits à poser le problème essentiel de la casualisation. La démarche évoquée ci-dessus nous imposait un ordre croissant pour les niveaux d'intensités de la première série de stimulation. Nous pouvions donc les répartir de manière aléatoire lors des répétitions ultérieures, et le devions même théoriquement. Cependant nous avons constaté que l'application brutale d'intensités fortes entraînaient plus facilement l'apparition de lésions, ou du moins en augmentaient considérablement les risques. Autrement dit les répétitions ultérieures ne pouvaient être exécutées, alors même que le niveau maximum avait été supporté lors de la première série. Nous avons dû sacrifier la casualisation. Ce point est important à noter en vue de l'interprétation de nos résultats.

En ce qui concerne les autres facteurs, la question ne se pose pas puisqu'ils sont tous deux de nature temporelle.

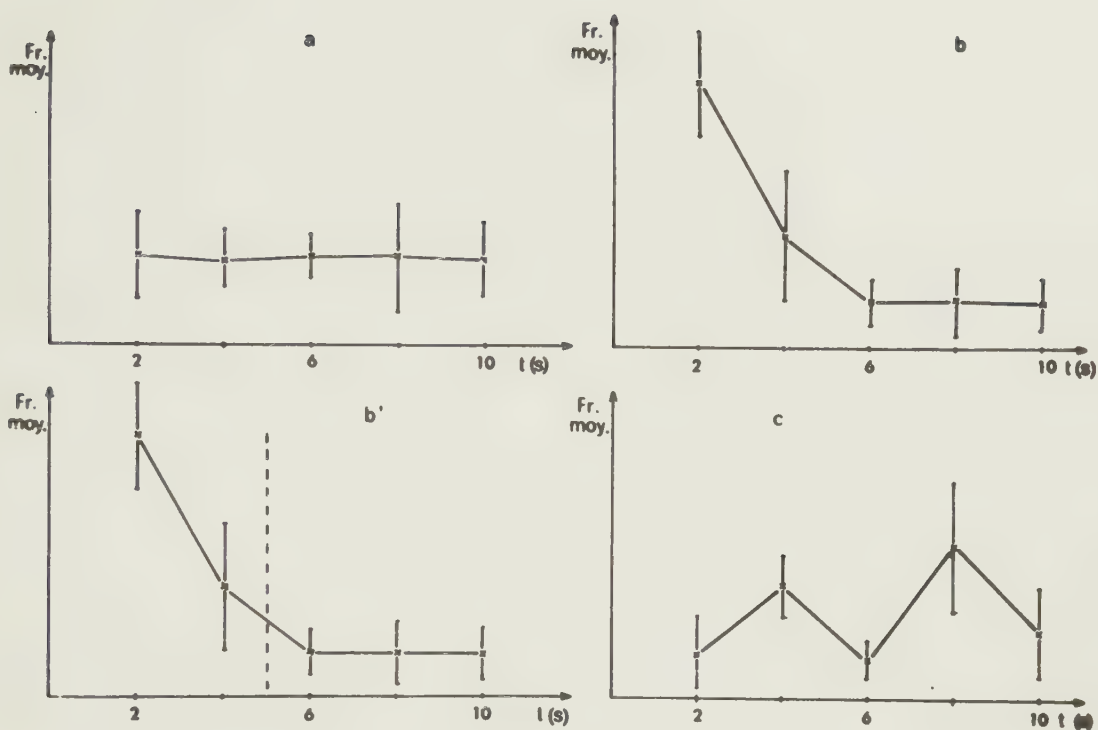
### 3.5. La délimitation des échantillons.

#### 3.5.1. Homogénéité de l'activité de repos.

Nous avons déjà souligné l'importance du risque de modification de l'activité de repos du fait soit d'une altération lésionnelle de la cellule, soit d'une variation de l'excitabilité corticale globale.







1253

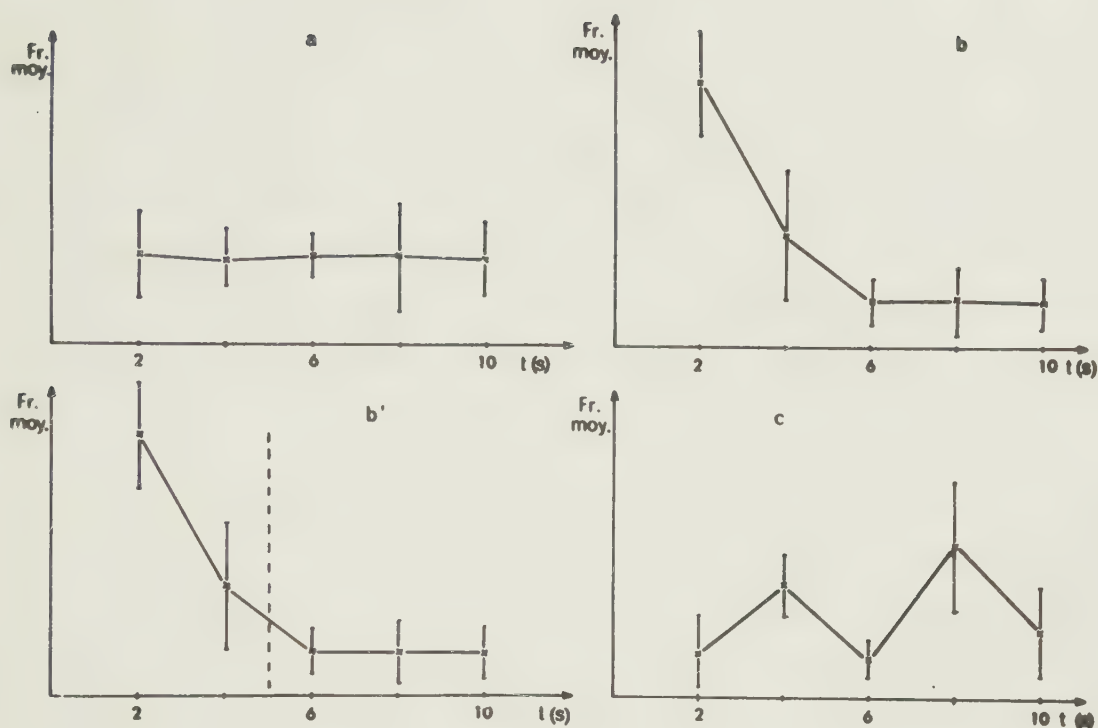
Figure 12

Exemple illustrant l'évolution de la fréquence des PA, en fonction du temps à court terme (a.b.c).

b' délimitation de l'échantillon b.

Les figures 12 - 13 - 14 évoquent des cas théoriques possibles. Les graphiques ne sont pas construits à partir de données expérimentales.





1253

Figure 12

Exemple illustrant l'évolution de la fréquence des PA, en fonction du temps à court terme (a.b.c).

b' délimitation de l'échantillon b.

Les figures 12 - 13 - 14 évoquent des cas théoriques possibles. Les graphiques ne sont pas construits à partir de données expérimentales.



Nous avons préféré, pour simplifier l'interprétation ultérieure des résultats, ne travailler que sur des périodes de temps pendant lesquelles la richesse de l'activité spontanée était homogène. Pour cela nous avons étudié pour chaque cellule les périodes dites de repos sur un graphique de l'activité moyenne en fonction du temps à long terme T, c'est-à-dire soit par lignes, soit par série. Nous avons discuté ce graphique à l'aide des analyses de variance correspondantes, de manière à définir un lot de lignes et de séries ne présentant plus de variation interne significative. La conduite de cette opération de délimitation des échantillons mérite cependant d'être précisée en détail à travers une évocation des cas possibles.

### 3.5.2. Etudes des cas possibles.

Une première question est d'abord posée : s'agit-il bien en fait d'une période de repos ? En effet même les dix secondes qui précèdent la première stimulation de longue durée suivent en fait les essais initiaux de détermination du seuil (cf. 3.3.1.). De manière générale donc, la stimulation précédente peut à priori laisser encore des traces, ou post-effet assez long pour dépasser la période dite de poststimulation. Mais dans ce cas on peut s'attendre à ce que cette influence décroisse en fonction de  $t$ , et soit d'autant plus nette qu'elle correspond à une stimulation plus forte.

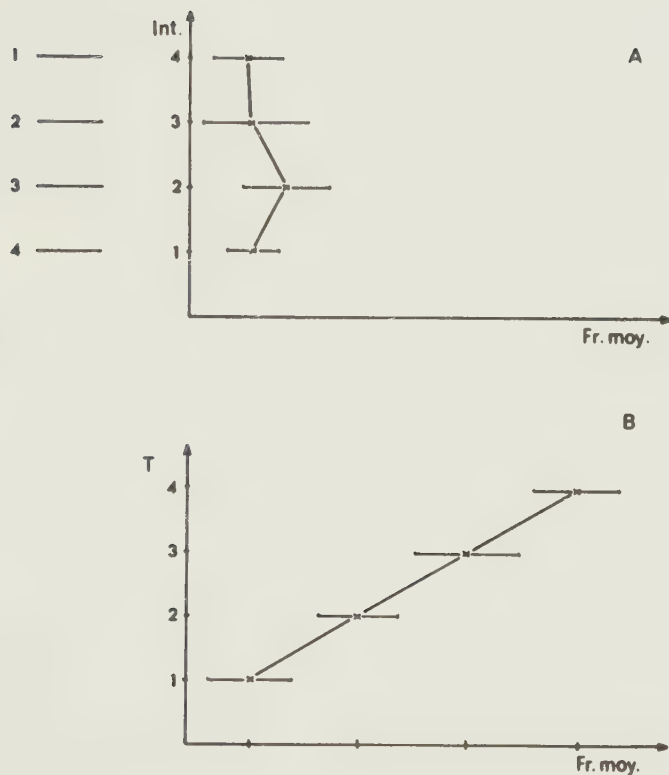
Nous avons donc vérifié ces deux points en contrôlant les moyennes par intensité de stimulation, et par tranche de temps à travers les facteurs ligne et colonne de l'analyse de variance à deux ou trois facteurs comme nous allons le préciser ci-dessous.

Si la fréquence moyenne ne varie pas en fonction du temps ni de l'intensité, cas le plus fréquent, nous ne rejetons pas l'hypothèse de repos (cf. fig. 12a et 13A).

Si la moyenne varie irrégulièrement au fil du temps ( $t$ ) (cf. fig. 12C) ceci n'est pas interprété comme le risque d'un post effet durable. Néanmoins nous retenons cet aspect particulier pour le prendre en compte lors de la discussion des effets de stimulations.







1257

Figure 13

- A. Evolution de la fréquence moyenne des PA en fonction des intensités regroupées par niveaux.
- B. Evolution organisée de la fréquence moyenne en fonction du temps à long terme.



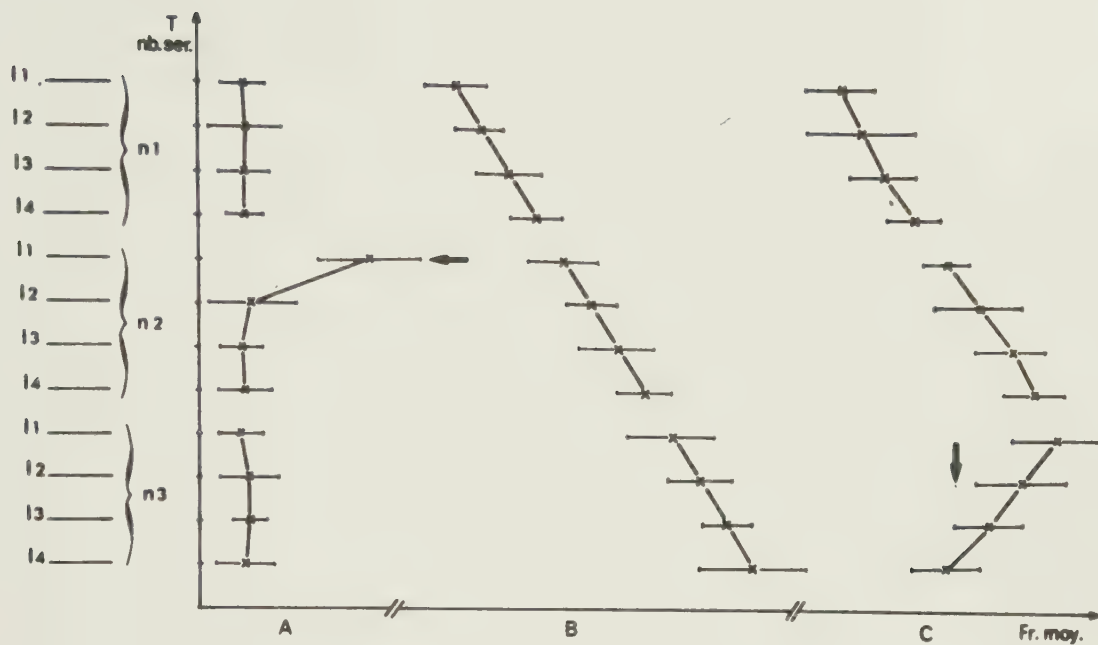
Si la moyenne décroît au fil du temps ( $t$ ), (cf. fig. 12b) nous ne retenons cette évolution comme significative que si elle est confirmée par l'analyse de variance à trois facteurs et l'examen des intervalles de confiance ; nous attachons à ceux-ci plus de valeur pratique qu'à la PPDS en raison de leur mode de calcul (cf. 2.5.1.). Dans ce cas nous éliminons les tranches de temps en cause ; nous répétons le test sur les données restantes (cf. fig. 12b' à droite du trait interrompu) et nous pouvons admettre en général, à ce point de vue, l'hypothèse de repos, le cas échéant la cellule n'est pas exploitée.

Si éventuellement sur les seules données ainsi "sélectionnées" la moyenne évolue régulièrement en fonction de l'intensité nous regardons si cet effet varie de manière significative d'une série à l'autre, autrement dit s'il y a une interaction  $T \times I$ . Si elle n'existe pas nous concluons à la présence d'un post effet durable, ce qui élimine par conséquent la notion de période de repos. Dans un tel cas la cellule n'est pas davantage exploitée.

Par contre s'il y a une interaction nous consultons le tableau des moyennes de chaque série (cf. annexe). Il montre soit une irrégularité générale du sens de la variation, permettant de ne pas y voir la marque d'un post effet et de ne pas rejeter l'hypothèse de repos, soit une régularité éventuelle des seule (s) dernière (s) série (s) confirmée par une intervention du facteur  $T$  à leur niveau, et dans ce cas nous abandonnons celle (s) - ci.

Une fois vérifié que nous pouvons considérer comme époque de repos tout, ou une partie des données recueillies en période de pré-stimulation, nous nous posons à leur sujet, dans un deuxième temps, la question de l'homogénéité au cours de temps à long terme  $T$ . Il ne s'agit donc pas de tester la stationnarité du phénomène, c'est-à-dire que l'ensemble des propriétés statistiques sont invariantes par translation, problème particulièrement complexe, mais plus simplement vérifier que la fréquence moyenne de repos ne varie pas de manière significative pendant la période de temps d'exploitation de la cellule ; Plus exactement si tel était le cas, de s'assurer que cette variation est régulière, et d'un type assez simple pour ne pas compliquer l'interprétation des résultats de stimulations.





12~3

Figure 14

Graphique ligne par ligne illustrant l'évolution de la fréquence moyenne en fonction du temps à long terme (cf. le texte).





Nous avons procédé en deux étapes. La première est l'examen du graphique des moyennes ligne par ligne ; la seconde celle des moyennes série par série. Dans les deux cas nous interprétons le graphique en fonction de l'analyse de variance correspondante, à deux ou trois facteurs, et des intervalles de confiance.

Si ni les lignes ni les séries ne présentent de variation significative, le lot est considéré comme homogène et les données de stimulation correspondantes sont exploitées.

Si les moyennes par lignes montrent une variation progressive régulière (cf. fig. 14B) retrouvée évidemment au niveau des séries, cela traduit une influence du facteur T, mais sa régularité permet de la définir par un test de régression. la valeur de la pente est prise en considération pour l'interprétation des résultats de stimulation. L'ensemble du lot de données peut donc, là encore, être exploité (cf. fig. 13B).

Si une variation des moyennes se manifeste à partir d'un certain moment que ce soit sur un fond de stabilité, ou par l'inflexion brusque d'une évolution préalablement régulière (cf. fig. 14C), se retrouvant de même sur les lignes et les séries correspondantes, confirmée par une interaction  $T \times I$  significative nous estimons que cette inflexion du graphique marque la fin de la période d'homogénéité de l'activité de repos. Nous utilisons dans ce cas, pour l'étude des stimulations, les séries précédant cette inflexion et pour laquelle l'interaction au repos n'est plus retrouvée.

Nous procédons donc à une délimitation des données exploitées parmi les données recueillies dans l'optique bien définie de centrer notre étude sur les parties les plus homogènes de l'activité cellulaire.

Si enfin la moyenne par ligne varie passagèrement au cours du temps T (cf. fig. 14A), nous prenons en considération l'importance de cet écart par rapport à la PPDS, mais surtout par rapport à l'intervalle de confiance de cette mesure. Si celui-ci est très important, traduisant une variation brusque et importante de l'activité cellulaire à ce moment, nous estimons que celle-ci a une probabilité très faible de se reproduire pendant la stimulation suivante ; nous ne repêtons pas ces données.

Dans le cas contraire, nous estimons qu'il s'agit d'une variation plus durable, persistant sans doute pendant la stimulation ;



ne pouvant alors éliminer celle-ci seulement, car nos programmes sont établis pour exploiter des blocs systématiques nous avons le choix entre deux solutions. Soit le rejet des données des cellules considérées, soit le rejet de toutes les stimulations de cette intensité. Dans le premier cas nous perdons l'exploitation d'une cellule ; dans le second nous procédons à une sélection des données, et non plus à une simple délimitation dans le temps de l'échantillon exploité. Dans la pratique nous avons montré par épreuves successives que les sélections envisagées ne changent pas les conclusions du test, dans ces conditions nous gardons l'ensemble des données. Le cas échéant la cellule n'est pas exploitée.

#### 4. Les cellules témoins.

Nous n'avons pû isoler plus de trois facteurs contrôlés de l'activité enregistrée, tous en relation avec les stimulations effectuées.

Il est cependant vraisemblable que d'autres sources de variations agissent sur l'activité unitaire et nous échappent complètement ; peut-être même sont-elles modifiées par nos stimulations ?

Faute de pouvoir les apprécier individuellement, nous avons cherché à estimer du moins de quelles manières elles étaient susceptibles de se manifester au niveau de nos résultats.

Pour cela nous avons enregistré l'activité unitaire spontanée à différents niveaux du cortex sans appliquer de stimulations électriques. Cette activité a été exploitée de la même manière, avec les mêmes tests, que pour les cellules stimulées. Nous avons considéré que dans ces conditions, ces cellules témoins nous fournissaient une base de comparaison pour apprécier la signification des effets de stimulations.

#### 5. La programmation des tests statistiques.

Nous avons vu que pour exploiter nos données par la méthode statistique nous avons utilisé un certain nombre de tests. Dans la pratique ces tests sont mis à contribution un grand nombre de fois ; d'autre part le degré de complexité relatif de certains excluait leur utilisation manuelle, voire même avec une machine à calculer. Restait la solution de traiter avec un ordinateur.



Pour cela nous avons transposé nos tests statistiques sous forme de programmes. Nous allons présenter dans ce chapitre, brièvement, le langage de programmation, l'ordinateur. Nous parlerons de certains points communs à tous les programmes ; et des différents programmes utilisés.

### 5.1. Le langage de programmation.

Pour réaliser nos programmes nous avons le choix entre plusieurs langages. Nous avons utilisé le FOCAL. Ce langage élaboré du type conversationnel est le seul qui permet aux "non professionnels de la programmation", l'accès au calcul avec ordinateur. Sa souplesse d'utilisation autorise facilement des modifications, des corrections de programme à n'importe quel moment.

En revanche, l'utilisation de ce langage prend beaucoup de place en mémoire et implique une restriction quant à la capacité des données susceptibles d'être traitées.

### 5.2. L'ordinateur.

Il s'agit d'un PDP8I, dont les caractéristiques essentielles sont les suivantes : 12 bits - 8 K de mémoire.

Nous avons systématiquement utilisé les périphériques "Dectape" qui contiennent les programmes. Nous avons rarement utilisé les moyens de visualisation, oscilloscope ou table traçante pour travailler sur les courbes calculées par l'ordinateur.

#### 5.2.1. L'entrée des données.

L'entrée des données dans l'ordinateur peut se faire de différentes manières. Nous avons systématiquement opté pour le ruban perforé. Cette solution présente à notre avis beaucoup d'avantages : possibilité de perforer les rubans à l'avance ce qui ne mobilise pas inutilement l'ordinateur, stockage facile, utilisation souple des documents. Les instructions sont perforées de la façon suivante, et dans l'ordre : numéro de l'expérience, nature de l'époque, nombre total de données, nombre de colonnes, de lignes, de séries ; ceci constitue le sommaire. Après un espacement on perforé les données dans l'ordre du tableau d'origine (cf. fig. 11). Les séries sont séparées par un espacement ce qui facilite le repérage pour d'éventuels calculs partiels, ou regroupements.





### 5.2.2. La correction des erreurs.

Pour éviter des erreurs d'exploitation chaque programme frappe systématiquement la référence du tableau de données qu'il traite.

Pour corriger les erreurs de frappe ou de lecture du ruban, les données sont présentées par les programmes sous forme d'un tableau à trois dimensions. Au cas où une erreur doit être corrigée, le programme demande le vecteur de la case, frappe la variable erronée, et demande la nouvelle valeur qui est substituée à la précédente.

### 5.2.3. Les bornes.

Pour réaliser les délimitations éventuelles de l'échantillon exploité et les contrôler, nous avons placé un dispositif de bornes ; celles-ci permettent de cadrer électivement, les lignes, colonnes, séries sur lesquelles on désire effectuer les calculs.

## 5.3. Les programmes.

Pour l'exploitation statistique de nos données nous avons utilisé les programmes suivants :

### a) Programme d'histogramme.

Ce programme fournit les courbes de l'histogramme, et histogramme cumulé, l'étendue de la variation, l'intervalle de classe. Pour chaque classe on obtient la valeur de classe, l'effectif en valeurs absolue et relative.

Avec ce programme il est possible de transformer les variables  $X$  en  $\text{Log de } X$  ,  $\sqrt{X}$  ,  $\frac{1}{X}$  , et de réaliser les histogrammes correspondant aux différentes transformations.

### b) L'analyse de variance à deux facteurs.

Ce programme fournit :

1° - Le graphique des moyennes par ligne et par colonne et leur intervalle de confiance ;

2° - Les résultats partiels tels que : moyenne, variance coefficient de variation par ligne et colonne ;





3° - Les résultats globaux : somme des carrés, variance résiduelle, moyenne générale avec son intervalle de confiance, coefficient de variation global, la valeur des F calculés et leur d.d.l., les d.d.l. de la variance résiduelle. En outre on calcul systématiquement la PPDS au risque 0.05 pour chaque facteur.

c) Le test de linéarité.

Ce programme fournit :

1° - Un graphique des lignes regroupées par niveaux avec les résultats partiels, comme pour l'analyse de variance à deux facteurs ;

2° - Un graphique correspondant à la droite de régression linéaire ;

3° - Les résultats numériques suivants : Moyenne des variables X et Y, le coefficient de variation  $\hat{b}$ , la valeur de la droite à l'origine (c), le seuil théorique, le coefficient de corrélation et son intervalle de confiance, les facteurs de régressions linéaire et non linéaire, et les d.d.l. correspondants, la variance résiduelle, les différentes sommes de carrés utilisés pour le calcul de la linéarité.

Nous donnons en annexe un exemple du test de linéarité.

d) Analyse de variance à trois facteurs et interactions.

Ce programme fournit les données numériques suivantes :

Les tableaux intermédiaires de moyennes par combinaisons de facteurs, soit trois tableaux, les moyennes globales et les totaux par lignes, colonnes séries, la variance résiduelle, le coefficient de variation, la moyenne générale, la valeur de F des différents facteurs et interactions, les PPDS pour un risque  $\alpha$  0.05 des lignes, colonnes, séries, et cases des tableaux intermédiaires.

Nous présentons en annexe un tableau récapitulatif de l'analyse de variance à trois facteurs, un exemple, l'organigramme et le listing du programme.

e) Les régressions polynômiales.

A partir des résultats partiels de l'analyse de variance à trois facteurs ce programme fournit les résultats suivants : la valeur de F des régressions linéaires, quadratique, cubique, les coefficients de régression correspondants, leur intervalle de confiance, les d.d.l.

Nous donnons en annexe un exemple d'analyse polynômiale.



### III - RESULTATS.

#### 1. Activité Unitaire.

L'expérience a été pratiquée à partir de vingt-huit animaux. Nous avons enregistré soixante-seize cellules dont soixante-dix ont été l'objet de stimulations test en DC, six n'ont pas subi de stimulation et sont traitées comme cellules témoins.

Le courant s'est avéré inefficace sur trente-six d'entre-elles, et ceci, quelles que soient les intensités et polarités appliquées. En revanche, trente-quatre cellules ont été sensibles au courant, dont vingt-deux ont pu être retenues pour l'exploitation statistique des données ; quinze cellules stimulées en courant dépolarisant, sept en courant hyperpolarisant.

Sur ces soixante-dix cellules, quatorze ont une activité spontanée ; pour les cinquante-six autres cellules nous avons évoqué les PA par des chocs corticaux (cf. I. 2.3. 3.1.).

##### 1.1. Caractéristiques de l'activité unitaire.

###### a) La fréquence.

Pour les cellules qui ont une activité de repos la fréquence moyenne est de 1,5 PA/S, pour sept cellules, et de 12 à 14 PA/S pour les sept autres cellules.

###### b) L'amplitude.

L'amplitude varie entre 5 et 50 mV elle dépend surtout de la distance entre l'électrode et la cellule (cf. fig. 15).

###### c) La durée.

La durée est généralement comprise entre 1,5 et 2 mS. (cf. fig. 15).





Figure 15

Potentiel d'action évoqué par un choc électrique cortical. La flèche indique l'artéfact de stimulation.

Calibration 2 mS 4 mV.



d) La forme.

La forme correspond le plus souvent à celle du PA présenté dans la figure 15. On distingue assez nettement le changement de pente qui objective la présence de l'ensemble du PA somato-dendritique (IS - SD). Ces paramètres sont valables pour une activité spontanée ou évoquée non lésionnelle.

1.2. Niveaux corticaux et effet du courant.

Les neurones interrogés se situent de la façon suivante selon cinq niveaux corticaux.

| Niveaux corticaux ( ) | Nbre cellules | %           |
|-----------------------|---------------|-------------|
| A. 5 209              | 7             | 10          |
| B. 300 599            | 19            | 27,14       |
| C. 600 899            | 17            | 24,2        |
| D. 900 1199           | 17            | 24,2        |
| E. 1200 1800          | 10            | 14,2        |
|                       | <hr/> 70      | <hr/> 99,74 |

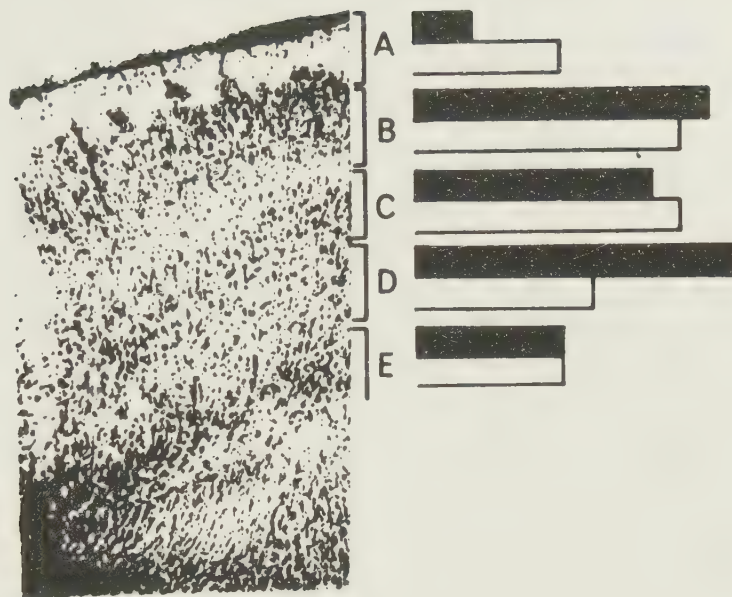
Les effets du courant se répartissent de la façon suivante :

| Niveaux | Cellules | DC efficace | %    | DC inefficace | %    |
|---------|----------|-------------|------|---------------|------|
| A       | 7        | 5           | 71,4 | 2             | 28,6 |
| B       | 19       | 9           | 47,3 | 10            | 52,7 |
| C       | 17       | 9           | 52,3 | 8             | 47,7 |
| D       | 17       | 6           | 35,2 | 11            | 64,8 |
| E       | 10       | 5           | 50   | 5             | 50   |

Ces données sont illustrées par l'histogramme de la figure 16.







1245

Figure 16

Histogramme montrant la répartition dans les couches corticales étudiées de cellules activées par le DC (blanc), et non activées par le DC (noir).



Nous avons d'autre part effectué un test  $\chi^2$  sur ces données, le résultat est le suivant :

| DC efficace |     |
|-------------|-----|
| O           | C   |
| 5           | 3,5 |
| 9           | 9,5 |
| 9           | 8,5 |
| 6           | 8,5 |
| 5           | 5   |
| F = 1 432   |     |
| d.d.l 4     |     |

| DC inefficace |     |
|---------------|-----|
| O             | C   |
| 2             | 3,5 |
| 10            | 9,5 |
| 8             | 8,5 |
| 11            | 8,5 |
| 5             | 5   |
| F = 1 432     |     |
| d.d.l 4       |     |

$$\chi^1 + \chi^2 = F 2,864 \alpha > 0,1$$

Il n'y a donc aucune différence significative entre les proportions observées.

## 2. Stimulation en courant continu dépolarisant.

### 2.1. Epoque de préstimulation.

#### 2.1.1. Normalité de la distribution.

Pour les sept cellules qui présentent une activité spontanée, l'histogramme de fréquence n'a pas, ou peu la forme gaussienne. Les diverses transformations effectuées n'ont apporté aucune modification de forme dans le sens d'une amélioration de l'allure générale de la courbe (cf. tableau A.1). Le diagramme de Henri effectué sur les données de chaque cellule, à partir des résultats de l'histogramme cumulé, a permis de construire une droite. Ceci nous autorise à ne pas refuser la normalité pour ces cellules, et à faire les tests statistiques.



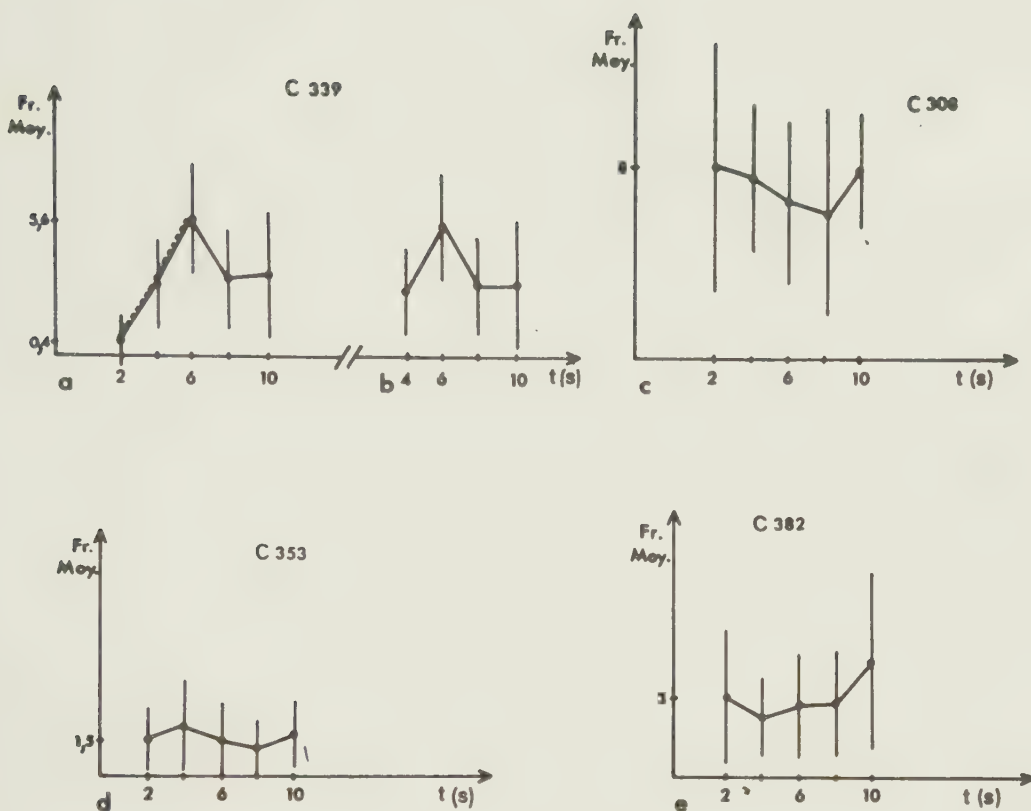


Figure 17

### Epoque de préstimulation

- Evolution de la fréquence cellulaire en fonction du temps à court terme.

- b. délimitation de l'échantillon a.

Sur cette figure et les suivantes une PPDS entre deux valeurs est représentée par :

- . un trait interrompu      risque  $\propto$  0,05
- . un double trait          risque  $\left( \begin{array}{l} 0,01 \\ \propto \\ 0,001 \end{array} \right.$



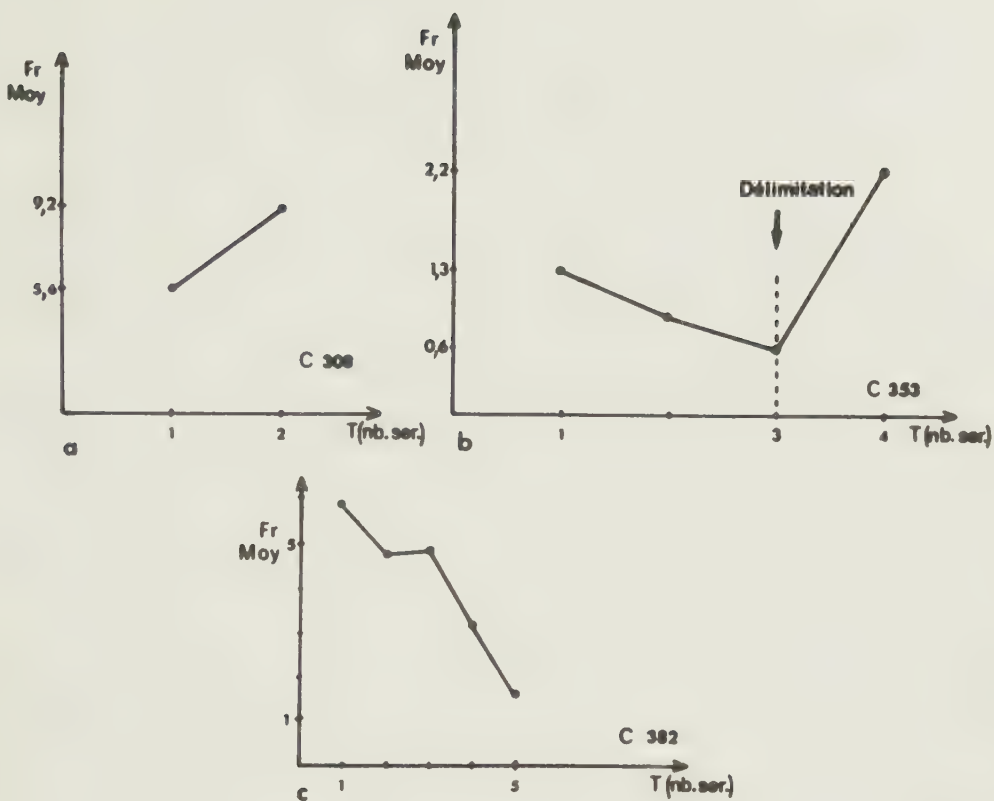


Figure 18

### Epoque de préstimulation

- Evolution de la fréquence cellulaire des PA en fonction du temps à long terme.
- b délimitation de l'échantillon.





### 2.1.2. Les effets de l'intensité.

L'ensemble des cellules traitées pour cette période ne présente pas de facteur intensité significatif (cf. tableau A.2).

Ceci est un premier argument pour considérer cette période comme époque de repos.

### 2.1.3. Les effets du temps à court terme (t).

Une cellule C 339, qui a été stimulée à cinq reprises avec la même intensité (20 nA) présente un effet  $t$  significatif (cf. tableau A.2). L'analyse graphique (cf. fig. 17a) montre que cet effet est dû à la différence de moyenne entre la 2ème et 6ème seconde. On note en effet une P.P.D.S. ( $\alpha = 0,05$ ). Si on opère une délimitation sur la première tranche de temps (cf. fig. 17b) le facteur considéré n'est plus significatif ( $\alpha > 0,1$ ).

Il n'a pas été possible de corrélérer cette moyenne anormalement basse avec d'autres paramètres, en particulier avec des modifications E.E.G.

Dans l'ensemble il n'existe pas d'évolution de la fréquence cellulaire (cf. fig. 17c.d.e.) ; ceci est le second argument pour admettre l'époque de repos.

### 2.1.4. Les effets du temps à long terme (T).

Quatre cellules, C 308, C 353, C 381, C 382 montrent un effet du temps à long terme significatif (cf. tableau A.2). Il existe donc une évolution de la fréquence cellulaire en fonction de T.

En ce qui concerne C 353, on note une augmentation de la fréquence moyenne sur la dernière série. L'analyse détaillée du graphique des intensités pour cette série montre que l'effet considéré est électivement dû à une augmentation importante de la fréquence cellulaire pour la dernière intensité appliquée. Une augmentation aussi soudaine peut faire suspecter un état lésionnel. Nous avons pratiqué une délimitation sur cette dernière série (cf. fig. 18b). L'analyse sera faite sur les trois séries restantes (cf. II.3.5.).



| Int.<br>nA.<br>N°<br>Cell. | 2,5            | 5              | 10             | 15             | 20             | 25 | 30 | Seuil de signification ( $\alpha$ )<br>des intensités extrêmes. |
|----------------------------|----------------|----------------|----------------|----------------|----------------|----|----|-----------------------------------------------------------------|
| 308                        |                |                | * <sup>▲</sup> | *              | *              |    |    | 0,1                                                             |
| 312                        |                |                |                | * <sup>▲</sup> | *—*            | *  | *  | 0,01                                                            |
| 313                        |                |                | * <sup>▲</sup> | *—*            | *              | *  |    | 0,025                                                           |
| 315                        |                |                |                |                | * <sup>▲</sup> | *  | *  | 0,1                                                             |
| 310                        |                |                | * <sup>▲</sup> | *              | *              | *  |    | 0,01                                                            |
| 327                        |                | * <sup>▲</sup> | *—*            | *              |                |    |    | 0,001                                                           |
| 339                        |                |                |                |                | *              |    |    | 5 fois 20 nA.                                                   |
| 353                        | * <sup>▲</sup> | *—*            |                |                |                |    |    | 0,001                                                           |
| 360                        |                | *              | * <sup>▲</sup> | *              | *              |    |    | 0,001                                                           |
| 364 <sub>1</sub>           |                | * <sup>▲</sup> | *—*            | *              |                |    |    | 0,001                                                           |
| 364 <sub>2</sub>           |                |                | * <sup>▲</sup> | *—*            | *              |    |    | 0,001                                                           |
| 364 <sub>3</sub>           |                |                |                | * <sup>▲</sup> | *—*            | *  |    | 0,001                                                           |
| 375                        |                | * <sup>▲</sup> | *—*            | *              |                |    |    | 0,001                                                           |
| 376                        |                | *—*            | * <sup>▲</sup> | *              |                |    |    | 0,001                                                           |
| 379 <sub>1</sub>           |                |                | *—*            | * <sup>▲</sup> | *—*            | *  |    | 0,001                                                           |
| 379 <sub>2</sub>           |                | *              | * <sup>▲</sup> | *—*            | *—*            | *  |    | 0,001                                                           |
| 379 <sub>3</sub>           |                | * <sup>▲</sup> | *              | *—*            | *—*            | *  |    | 0,001                                                           |
| 381                        |                | * <sup>▲</sup> | *              | *              |                |    |    | 0,1                                                             |
| 382                        |                | * <sup>▲</sup> | *—*            | *—*            | *              |    |    | 0,01                                                            |

1286

Tableau B

Tableau récapitulatif des intensités appliquées.

Les traits indiquent les écarts significatifs entre les intensités, les triangles noirs indiquent la valeur de l'intensité minimale significative.

La colonne de droite résume la valeur des seuils de signification pour les intensités extrêmes.



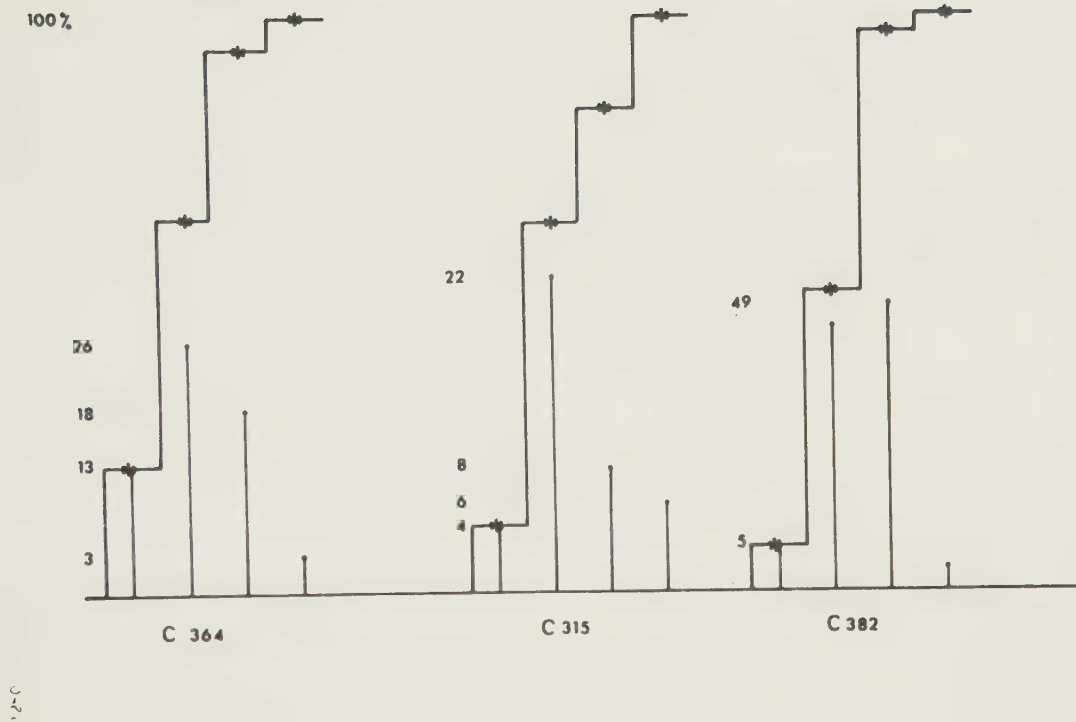


Figure 19

Epoque de stimulation

- Histogramme et histogramme cumulé (\*), montrant une répartition sensiblement gaussienne des données.



### 2.1.4.1. Relation entre la fréquence cellulaire et T.

Pour la cellule C 308 on obtient une régression linéaire positive, et négative pour les cellules C 381, C 382.

Nous interprétons les régressions linéaires en disant qu'il y a augmentation ou diminution de la fréquence cellulaire de  $\hat{b}$  PA par série (cf. tableau A.3).

Ces résultats indiquent que nous contrôlons assez bien la stationnarité telle que nous l'avons définie au chapitre des méthodes (cf. II.3.5.2.).

## 2.2. Epoque de stimulation.

### 2.2.1. Normalité de la distribution.

Pour les quinze cellules traitées, sans tenir compte des dissociations opérées pour les cellules C 364 et 379 seuls cinq histogrammes ont une forme proche de la courbe gaussienne (cf. tableau A.5). Nous avons représenté trois d'entre eux sur la figure 19. Pour l'histogramme des dix autres cellules, les différentes transformations n'apportent pas d'amélioration à la courbe d'origine. La droite de Henri effectuée pour l'ensemble des cellules nous autorise à accepter la normalité.

### 2.2.2. Les effets de l'intensité.

Pour onze cellules le facteur intensité est significatif, ou très significatif (cf. tableau A.6). Ceci signifie qu'il existe une relation entre les intensités du courant et la fréquence cellulaire.

En revanche, trois cellules C 308, C 315, C 381 n'ont pas de facteur intensité significatif.

### 2.2.3. Analyse de l'efficacité de l'intensité.

Les intensités appliquées aux différentes cellules varient de 0,5 à 30 nA. Généralement l'augmentation entre deux intensités est de 5 nA, exception faite pour la cellule C 353 (cf. tableau B). Du point de vue de l'effet du courant on peut distinguer deux cas.





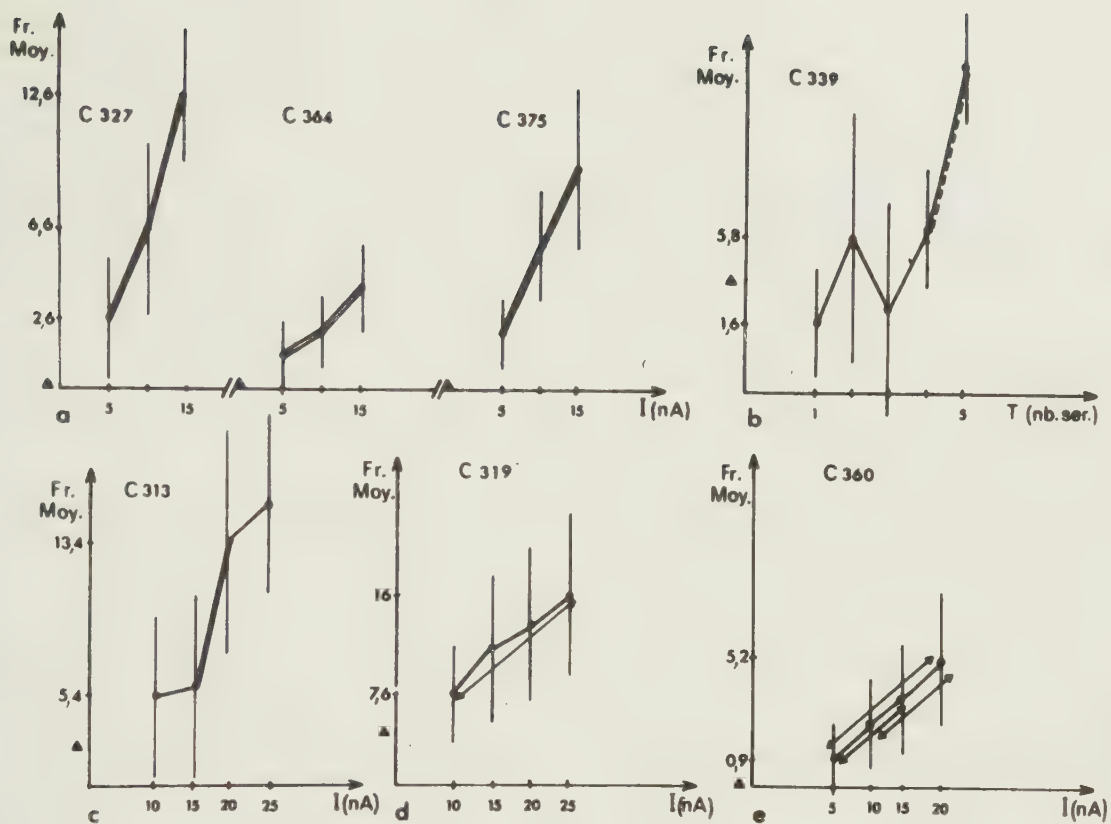


Figure 20

### Epoque de stimulation

- a.c.d.e Evolution de la fréquence des PA en fonction d'intensités de valeurs croissantes, - d - en fonction d'une intensité de même valeur.

- Sur cette figure et les suivantes, le triangle noir représente la fréquence moyenne des PA au cours de la période de préstimulation.



1°) L'application d'un courant dont l'intensité croît de 5 nA, entraîne des modifications systématiques et très significatives de la fréquence cellulaire (cf. fig. 20a, et tableau B). Trois cellules répondent de cette manière (C 327, C 364, C 375).

2°) L'application du courant telle qu'elle est définie ci-dessus n'entraîne pas de modification systématique significative de la fréquence cellulaire. L'action efficace significative est dans ce cas transitoire (cf. fig. 20c).

En effet ici, sur quatre intensités appliquées, seul le passage de la seconde à la troisième à une action significative.

Pour les cellules C 319 et C 360 (cf. fig. 20d.e) aucun changement d'intensité n'est isolément significatif.

Cependant il reste possible de comparer l'action des intensités entre elles de manière à déceler où se situent les PPDS. On note par exemple pour C 319, une PPDS ( $\alpha$  0,01), uniquement entre les fréquences moyennes correspondant à la première et quatrième intensité. De même pour C 360, plusieurs comparaisons sont possibles (cf. fig. 20c). Nous avons très fréquemment employé ce raisonnement pour interpréter la signification du facteur intensité.

Comme corollaire direct de ce qui vient d'être dit, si l'on compare les effets des intensités extrêmes sur la fréquence cellulaire on peut dire que :  
toutes les cellules sauf trois C 308, C 315, C 381, sont sensibles au courant, c'est-à-dire que des variations de courant dépolarisant déterminent une augmentation significative de la fréquence cellulaire (cf. tableau B).

#### 2.2.4. Stimulation à la même intensité.

La cellule C 339 a été stimulée cinq fois avec une intensité de même valeur (20 nA). Le facteur intensité de l'analyse de variance à deux facteurs devient donc le facteur série ou T. Il montre un effet significatif (cf. tableau A.6).



L'analyse du graphique (fig. 20b) montre que cet effet est dû uniquement à la dernière stimulation où l'on note une PPDS ( $\alpha > 0,05$ ) entre la quatrième et cinquième stimulation. De plus on note une augmentation de la fréquence moyenne entre la première et la deuxième, la troisième et la quatrième stimulation, et une diminution entre la deuxième et troisième stimulation ; ces dernières modifications de fréquence ne sont pas significatives.

Ces résultats indiquent qu'une intensité de même valeur, appliquée à des instants différents n'a pas la même action sur la fréquence cellulaire. Ceci doit nous inciter à être extrêmement prudents quant à l'interprétation des effets des stimulations à intensités croissantes, et particulièrement sur la signification des écarts significatifs transitoires. A ce point de vue il est intéressant de rapprocher ce résultat de celui obtenu avec la cellule C 313 (cf. fig. 20c). Dans ce dernier cas il devient très difficile d'affirmer que l'écart obtenu est lié à l'augmentation de 5 nA entre la deuxième et troisième stimulation.

#### 2.2.5. Relation entre la fréquence cellulaire et l'intensité.

Les régressions appliquées à douze cellules montrent les résultats suivants :

1°) Pour neuf cellules il existe une régression linéaire positive simple. Le seuil de signification est toujours très élevé (cf. tableau A.7). Ceci signifie qu'une augmentation de courant de 5 nA produit un accroissement linéaire de la fréquence cellulaire de  $\hat{b}$  fois, dans la limite des intensités appliquées.

Il faut remarquer à ce sujet deux points particuliers.

a) Il semble exister des différences assez nettes dans la valeur des pentes. Cependant nous ne sommes pas autorisés à les comparer puisque les variances entre cellules sont très différentes.



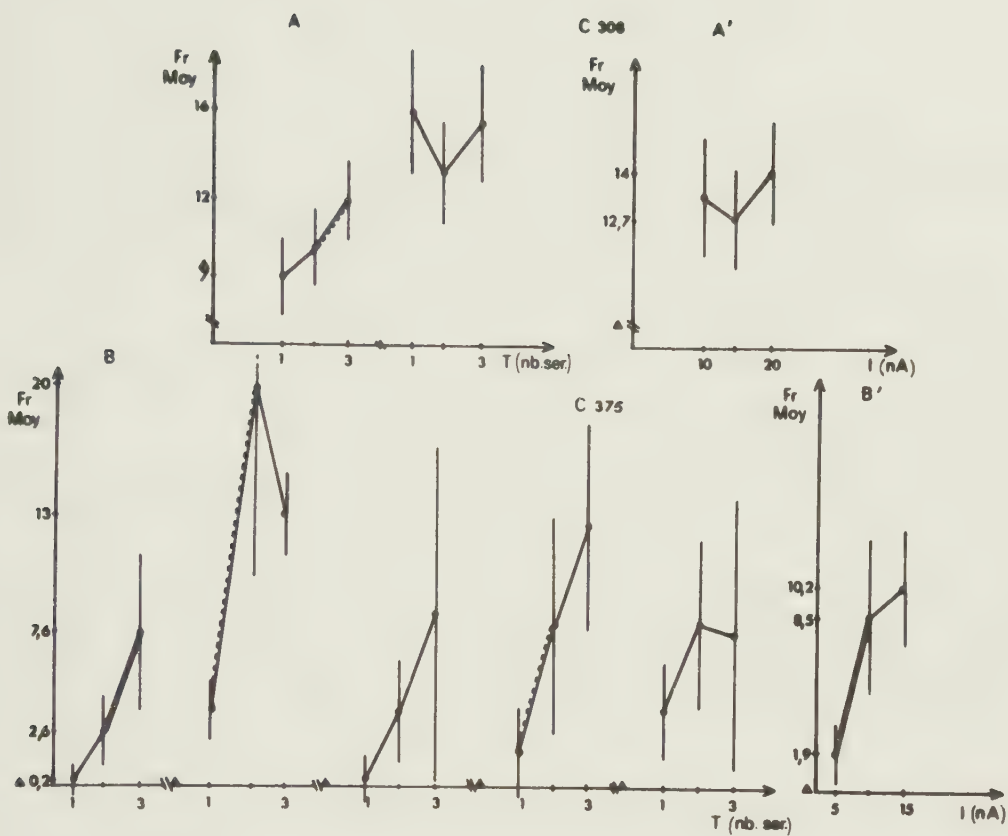


Figure 21

### Epoque de stimulation

- Les graphiques A et B illustrent les modifications de l'efficacité de l'intensité en fonction du temps à long terme.

- Les graphiques A' et B' regroupent les intensités par niveaux.





b) Le seuil théorique calculé systématiquement n'a une valeur aberrante que pour trois cellules C 308, C 315, C 381 (cf. tableau A.8). Ceci confirme les résultats obtenus soit par les régressions (cf. tableau A.7), soit par la valeur du facteur intensité (cf. tableau A.6).

2°) Pour deux cellules il existe une régression composite linéaire et quadratique. Pour C 353 les régressions sont positives. Pour C 376 la régression linéaire est positive mais la régression quadratique est négative (cf. tableau A.7).

Nous avons choisi la cellule C 376 (cf. fig. 21 B et B') pour illustrer ce que nous avons dit sur l'interprétation des régressions au chapitre des méthodes (cf. II.2.5.2. - 2.5.3.).

Si on décompose la courbe globale B' en courbes partielles on note une action différente des intensités selon les séries.

En effet on note une évolution linéaire de la fréquence cellulaire en fonction de l'intensité sur les, première, troisième et quatrième séries. En revanche on note, pour les deuxième et cinquième séries, une valeur plus faible pour les dernières intensités appliquées comparées aux précédentes. Ces deux séries sont sans doute la cause de la régression quadratique.

Si on applique le test de linéarité on note un facteur de régression linéaire très significatif, par contre le facteur de régressions non linéaires ne l'est absolument pas. (cf. en annexe l'exemple numérique des régressions appliquées à cette cellule).

La cellule C 308 présente uniquement une régression quadratique positive. L'aspect du graphique (cf. Fig. 21 A') rend bien compte de ce résultat. Mais si on traite séparément les deux séries par une analyse de variance et les régressions on obtient les résultats ci-dessous :

Série 1 : F intensité = 3,78     $\alpha$  0,05

On note une P.P.D.S. ( $\alpha$  0,05) entre la deuxième et troisième intensité (cf. fig.30 A<sub>1</sub>).

Régression linéaire positive

F = 7,04     $\hat{b} = 1,75$  (0,43 et 3,07)     $\alpha$  0,01



Série 2 : F intensité = 1,51       $\alpha$  0,1

Il n'existe pas de P.P.D.S. entre les différentes intensités.

Régression quadratique positive

F = 3     $\hat{b}$  = 0,93 (-0,16 et 2,03)     $\alpha$  0,1

Les deux séries rassemblées (cf. fig. 21 A') ne montrent pas de facteur intensité significatif, mais comme nous l'avons dit, une régression quadratique positive.

Si on compare les résultats obtenus avec ces trois cellules il est intéressant de noter deux points :

- 1°) La fréquence cellulaire n'évolue pas de la même façon, lorsqu'on applique les intensités de même valeur par ordre croissant à des moments différents. Nous avons déjà souligné cet aspect, mais dans des conditions différentes, pour la cellule C 339.
- 2°) Ces résultats illustrent, particulièrement la cellule C 308, le danger qu'il y aurait à établir une relation entre la fréquence et l'intensité à partir d'une seule série de mesures.

Nous interprétons les résultats des régressions complexes en disant que :

La relation entre la fréquence cellulaire à l'intensité s'écarte d'autant plus d'une relation linéaire que le facteur de régression quadratique est élevé.

#### 2.2.6. Cas où le facteur intensité n'est pas significatif.

Nous avons dit (cf. 2.2.2.) que trois cellules ne présentaient pas de facteur intensité à l'analyse de variance. Or, si on compare la fréquence moyenne de l'époque de préstimulation, à l'époque de stimulation on obtient les résultats suivants :

|       |            |       |    |          |       |
|-------|------------|-------|----|----------|-------|
| C 308 | $t = 5,46$ | d.d.1 | 88 | $\alpha$ | 0,001 |
| C 381 | $t = 3,66$ | d.d.1 | 88 | $\alpha$ | 0,001 |



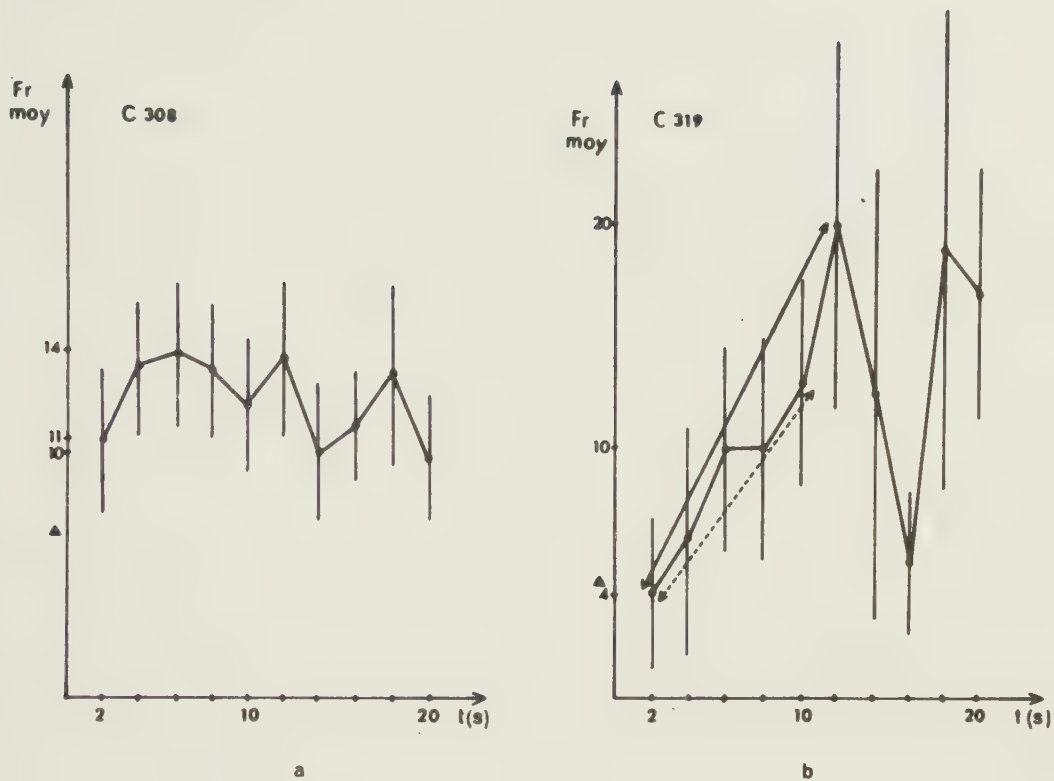


Figure 22

### Epoque de stimulation

Illustration de l'évolution de la fréquence des PA, en fonction du temps à court terme pour des stimulations de longue durée.



Pour la cellule C 315 :

Fréquence moyenne de l'époque de repos : 0

Fréquence moyenne de l'époque de stimulation 6,3 PA/S

Cette différence est probablement significative. Mais il n'est pas possible d'effectuer le test  $t$ .

Pour ces trois cellules il n'y a pas d'effet des intensités, mais une action globale du courant sur la fréquence cellulaire. Là encore, l'application d'un courant anodique détermine une augmentation significative de la fréquence cellulaire.

#### 2.2.7. Les effets du temps à court terme (t).

Dans l'ensemble des quinze cellules, on note un facteur temps à court terme significatif pour six d'entre elles (cf. tableau A.6).

##### 2.2.7.1. Les stimulations de longue durée.

Pour la majorité des cellules la durée de stimulation est de dix secondes ; selon notre découpage (cf. fig. 11) cela représente cinq tranches de temps de deux secondes (t). Sur trois cellules nous avons effectué des stimulations de plus longue durée (cf. tableau A.5).

Pour la cellule C 308 après dix secondes de stimulation, pour la cellule C 319 après 12 secondes de stimulation (cf. fig. 22 a et b), l'évolution de la fréquence cellulaire est complètement anarchique et les intervalles de confiance suggèrent qu'il existe une très grande dispersion des données. Nous retrouvons ce phénomène sur toutes les cellules stimulées en longue durée. Pour ces raisons, l'analyse des résultats porte généralement sur une période d'une durée maximum de douze secondes.

##### 2.2.7.2. Relation entre la fréquence cellulaire et le temps à court terme.

Nous avons appliqué les régressions aux cellules qui présentaient un facteur significatif à l'analyse de variance (cf. tableau A.6).





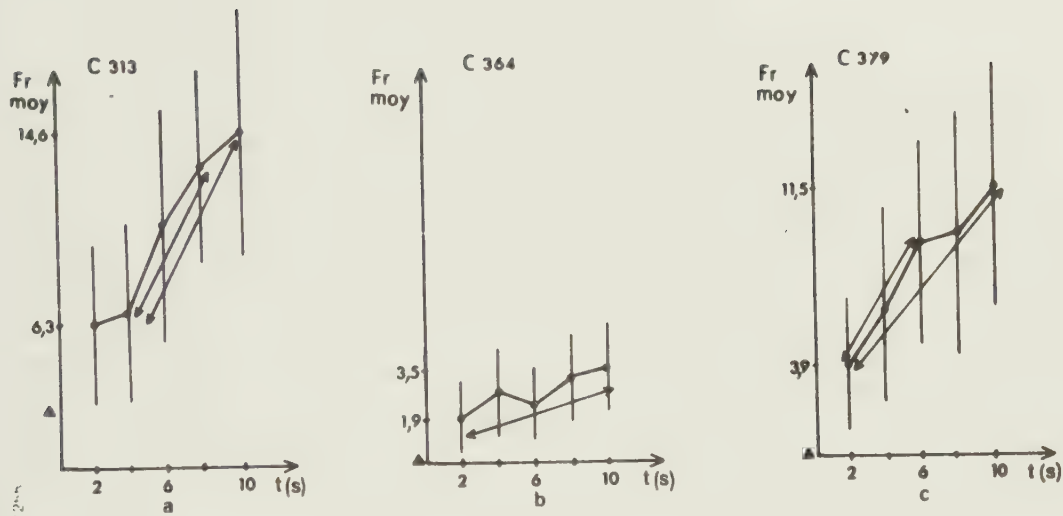


Figure 23

Epoque de stimulation  $DC^+$

Evolution de la fréquence des PA, en fonction du temps à court terme. Cette figure montre trois cellules qui ne s'adaptent pas au DC.



Nous obtenons les résultats suivants :

|                                             |            |
|---------------------------------------------|------------|
| Régression linéaire simple                  | 4 cellules |
| Régression linéaire et quadratique négative | 2 cellules |
| Régression quadratique négative             | 1 cellule  |
| Régression nulle                            | 8 cellules |

#### 2.2.7.3. Les régressions linéaires positives.

Quatre cellules présentent une telle régression ; l'interprétation en est simple. L'évolution de la fréquence cellulaire croît de façon linéaire en fonction du temps à court terme. Le coefficient de régression quantifie la pente de la courbe. Pour C 364 la valeur de la pente semble plus faible (cf. tableau A.7). Mais, ce qui concerne leur comparaison nous devons appliquer ici les mêmes restrictions que pour l'analyse des effets de l'intensité.

Donc pour ces quatre cellules il n'existe aucune adaptation au DC (cf. fig. 22b et 23 a.b.c.), c'est-à-dire qu'au bout de dix secondes l'efficacité maximum du courant n'est pas atteinte.

#### 2.2.7.4. Les régressions linéaires positives et quadratiques négatives.

Ces régressions sont trouvées sur deux cellules C 315 - C 327 (cf. fig. 24).

Pour la cellule C 315 on note un écart significatif entre la 2ème et 4ème seconde, puis la fréquence cellulaire se stabilise en plateau entre la 4ème et 10ème seconde qui coïncide avec la fin de la stimulation.

Pour la cellule C 327 (cf. fig. 24) l'écart se situe entre la 4ème et la 8ème seconde de stimulation. Il existe un écart important mais non significatif entre la 4ème et 6ème seconde. Ensuite, la fréquence cellulaire décroît de façon non significative jusqu'à la fin de la stimulation. On peut considérer que depuis la 6ème seconde jusqu'à la fin de la stimulation, il existe un plateau où la fréquence cellulaire n'évolue pratiquement pas.

Il y a donc une adaptation de la fréquence cellulaire au DC, d'un type particulier caractérisé par un plateau où la fréquence reste assez stable. Enfin pour C 327 l'efficacité maximum du courant n'est pas immédiate.



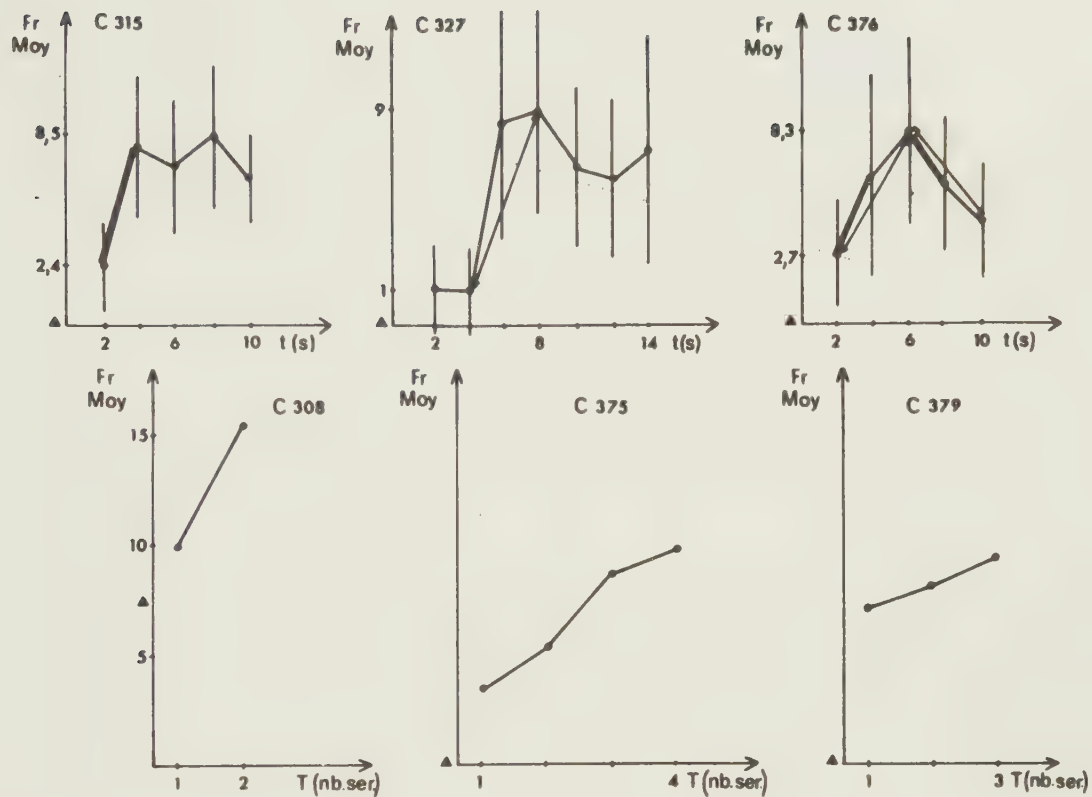


Figure 24

### Epoque de stimulation $DC^+$

- Evolution de la fréquence cellulaire des PA en fonction du temps à court terme. L'adaptation se caractérise soit par un plateau, soit par une décroissance de la fréquence.

- Evolution de la fréquence cellulaire en fonction du temps à long terme (enrichissement progressif de l'activité).



#### 2.2.7-5. La régression quadratique négative.

Cette régression intéresse une cellule C 376.

Si on interroge le graphique (cf. fig. 24), on note pour cette cellule une augmentation de la fréquence pendant six secondes avec une P.P.D.S. ( $\alpha$  0,01) entre la 2ème et 4ème seconde, 2ème et 6ème seconde de stimulation. Au bout de la 6ème seconde la décroissance de la fréquence se fait très rapidement. On note une P.P.D.S. de ( $\alpha$  0,01) entre la 6ème et 8ème seconde, et une autre ( $\alpha$  0,01) entre la 6ème et 10ème seconde.

Or, si l'on regarde par une analyse partielle l'évolution de la fréquence on note que :

- Entre la 2ème et la 6ème seconde l'évolution de la fréquence est linéaire ; de même que l'involution entre la 6ème et 10ème seconde. Les facteurs sont très significatifs, la valeur des pentes est très voisine et de sens opposé.

Nous avons dans ces conditions un type particulier d'habitation où contrairement au cas précédent il n'existe pas de plateau. Enfin, la croissance et la décroissance de la fréquence cellulaire évoluent selon la même loi, l'ensemble se manifestant sous l'expression d'une régression quadratique.

#### 2.2.8. Les effets du temps à long terme (T).

Le facteur temps à long terme s'est révélé significatif pour onze cellules (cf. tableau A.6). Nous n'incluons pas dans ces résultats les données dissociées en trois parties des cellules C 364 et C 379.

##### 2.2.8.1. Relation entre la fréquence cellulaire et le temps à long terme.

Nous avons trouvé des régressions linéaires positives pour cinq cellules, et négatives pour une cellule (cf. tableau A.7).

L'interprétation est simple ; il y a enrichissement ou appauvrissement de l'activité cellulaire selon une relation linéaire en fonction du temps à long terme, les pentes semblent différentes (cf. fig. 24 et tableau A.7). Mais il n'est pas possible de les comparer entre elles puisque les variances sont différentes (cf. tableau A.8).





#### 2.2.8.2. Les comparaisons de pentes entre époques.

Il existe une relation linéaire entre la fréquence et le temps à long terme pour les cellules C 308 et C 382, pendant les époques de préstimulation et de stimulation. Il est intéressant de comparer ces pentes puisque dans ce cas nous y sommes autorisés.

C 308    intervalle de confiance de  $\hat{b}$   
Préstimulation : 1,29    à    5,91  
Stimulation    : 3,78    à    7,03

C 382  
Préstimulation : -0,17    à    -0,79  
Stimulation    : -0,81    à    -1,43

Pour les cellules C 364, C 375, C 379, la fréquence de l'époque est nulle, on note des régressions linéaires positives, les intervalles de confiance de  $\hat{b}$  sont les suivants :

C 364            0,02    à    0,70  
C 375            1,06    à    2,67  
C 379            0,30    à    1,77

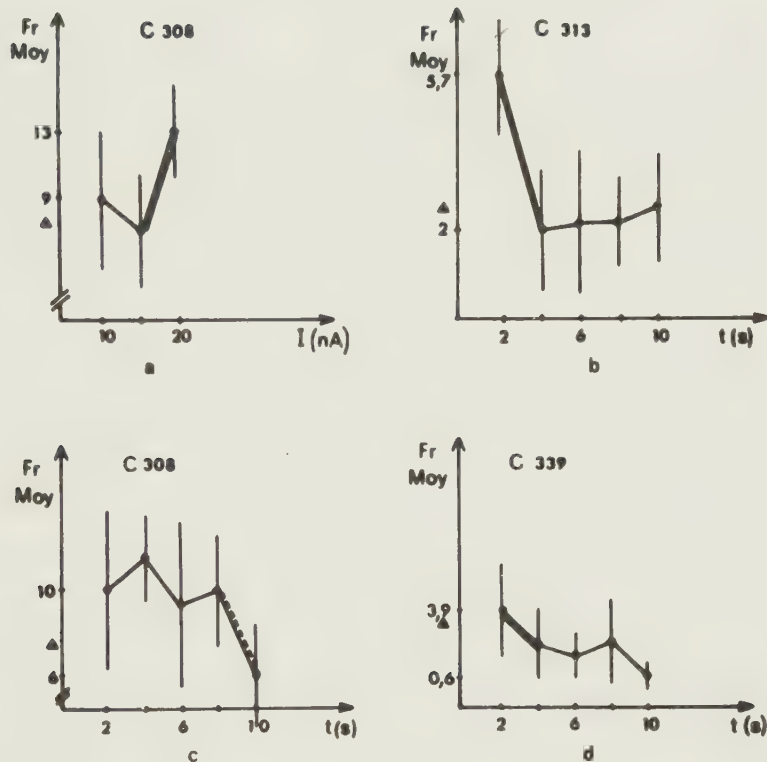
Dans ces trois cas aucune valeur des intervalles n'est négative.

#### 2.3. Epoque de poststimulation.

Les résultats de cette époque concernent quinze cellules, nous ne tenons pas compte des dissociations faites pour les données des cellules C 364 et C 379.

Sur quinze cellules, huit n'ont pas d'activité spontanée, donc les traitements sont faits sur les sept cellules.





1258

Figure 25

### Epoque de poststimulation DC<sup>+</sup>

- b.d. Evolution de la fréquence des PA en fonction du temps à court terme. Mise en évidence d'un post effet de brève durée.
- a. Post effet dû à la dernière intensité.
- c. Ce post effet se manifeste sur une période de huit secondes au niveau du temps à court terme C (cf. texte).



### 2.3.1. Les effets de l'intensité.

Deux cellules présentent un facteur intensité significatif C 308 et C 382 (cf. tableau A.10).

Pour la cellule C 308, l'effet est dû à la dernière intensité appliquée 20 nA (cf. fig. 25a). Dans ce cas le post effet n'est pas proportionnel, il est lié uniquement à l'intensité la plus forte.

Pour la cellule C 382, le facteur est dû à une chute de la fréquence moyenne consécutive à la seconde intensité. Il semble difficile de rattacher cela à une influence du courant, mais le plus vraisemblablement à une instabilité passagère de l'activité cellulaire.

### 2.3.2. Les effets du temps à court terme.

Pour la cellule C 308, on note une PPDS ( $\alpha$  0,05) sur la dernière tranche de temps. Si l'on borne sur cette tranche de temps le facteur n'est plus significatif. On serait tenté de penser qu'il existe un post effet d'une durée de huit secondes (cf. fig. 25c). Pour l'affirmer, il faudrait comparer la fréquence moyenne des périodes de préstimulation et de post stimulation ; il semble en effet que l'écart soit relativement important (7,4 contre 9,6), la différence significative de variance entre les deux époques ne nous permet pas cette comparaison. Nous ne pouvons donc pas conclure à un post effet de longue durée, malgré un facteur temps à court terme significatif.

Pour la cellule C 313, le facteur est dû à la première tranche de temps (cf. fig. 25b) où l'on note une PPDS ( $\alpha$  0,001). Si l'on borne sur cette première tranche, le facteur n'est plus significatif ( $\alpha$  0,1), le post effet est donc très localisé dans le temps puisqu'il ne dure que deux secondes.

Pour la cellule C 339, on note également une PPDS ( $\alpha$  0,05) entre la première et seconde tranche de temps (cf. 25d). Là encore si l'on borne ces deux premières secondes, le facteur considéré n'est plus significatif. Il existe par conséquent un post effet localisé d'une durée de deux secondes.

Si on compare pour ces cellules la fréquence moyenne globale des époques de préstimulation et de poststimulation (cf. tableaux A.4 et A.12), il ne semble pas exister de différence significative. Ceci tendrait à confirmer l'analyse ci-dessus concernant la brièveté du post effet.



### 2.3.3. Les effets du temps à long terme.

Quatre cellules présentent un effet temps à long significatif (cf. tableau A.10). Ceci indique par conséquent qu'il existe une évolution de la fréquence en fonction du temps à long terme.

Les régressions montrent une évolution linéaire positive pour trois cellules, et négative pour deux cellules. Pour la cellule C 308 nous obtenons une régression significative alors même que le facteur ne l'est pas :

Pour l'interprétation des régressions nous maintenons les mêmes restrictions (cf. 2.2.8.1.).

### 3. Interactions et tableaux intermédiaires.

Comme nous l'avons dit au chapitre des méthodes, nous avons systématiquement calculé les interactions en combinant les facteurs (cf. II.2.3.) et les tableaux intermédiaires correspondants. Notre but était de recueillir des informations quant à l'organisation de la fréquence cellulaire liée à un facteur en fonction d'un autre. Cette tentative a été très décevante, les informations étaient le plus souvent ininterprétables pour l'interaction temps à long terme x intensité, par contre la non-signification de cette interaction était un élément favorable pour notre interprétation, de même que la non-signification de l'interaction temps à court terme x intensité.

### 4. Stimulation en courant continu hyperpolarisant.

Sept cellules ont été stimulées en courant continu hyperpolarisant :

Trois ont fait l'objet de stimulation avec des intensités de valeurs croissantes.

Quatre ont été stimulées à plusieurs reprises avec une intensité de même valeur (20 nA).





#### 4.1. Epoque de préstimulation.

##### 4.1.1. Normalité de la distribution.

Pour trois cellules l'histogramme a une forme gaussienne, les points obtenus à partir de l'histogramme cumulé pour construire la droite de Henri se répartissent selon une droite.

Pour quatre cellules il n'a pas été possible de construire l'histogramme en raison du nombre insuffisant de données (cf. tableau C.1).

##### 4.1.2. Critères de l'époque de repos.

Pour les trois cellules stimulées avec des intensités croissantes on ne note aucun facteur intensité et temps à court terme significatif. Ces deux arguments nous autorisent à considérer cette période comme époque de repos.

##### 4.1.3. Les effets du temps à long terme.

Deux cellules C 306, C 312 ont un effet du temps à long terme significatif. Une analyse graphique montre que cet effet est dû à une augmentation importante de la fréquence cellulaire pour les dernières séries, ceci est vraisemblablement le reflet d'une souffrance cellulaire. Nous obtenons respectivement les résultats suivants :

|       |      |              |                                  |
|-------|------|--------------|----------------------------------|
| C 306 | 33,7 | contre 25 PA | pour les deux séries précédentes |
| C 312 | 35   | contre 21 PA | pour les deux séries précédentes |

Si on borne sur les séries en cause le facteur considéré n'est plus significatif.

Donc pour ces deux cellules nous avons pratiqué une délimitation (cf. tableau C.2 et II.3.5.).

#### 4.2. Epoque de stimulation.



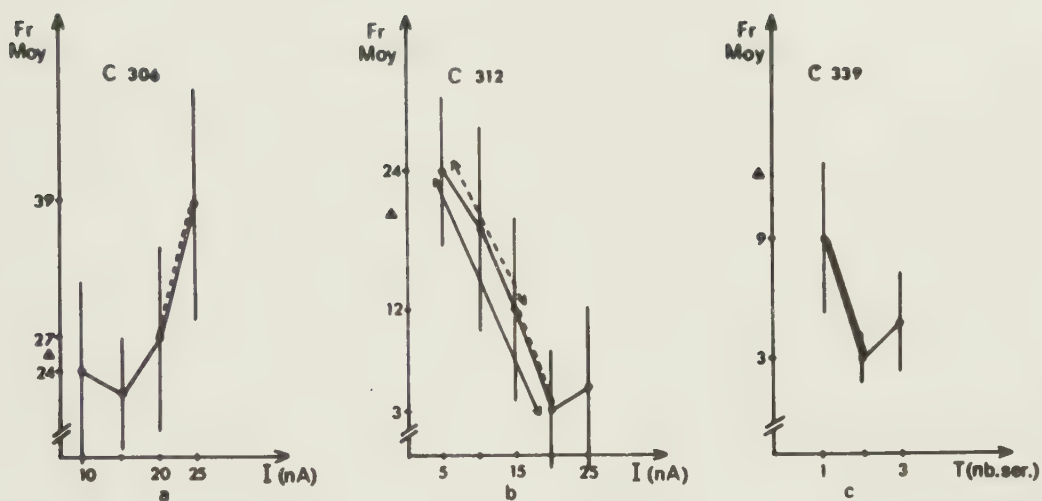


Figure 26

### Stimulation DC<sup>-</sup>

Evolution de la fréquence des PA en fonction de l'intensité a et b, et du temps à long terme C.



#### 4.2.1. Normalité de la distribution.

Pour les trois cellules où il a été possible de construire l'histogramme, un seul est de forme gaussienne. Cependant l'épreuve de la droite de Henri étant satisfaisante, nous avons continué les tests statistiques (cf. tableau C.4).

#### 4.2.2. Les effets de l'intensité.

Sur trois cellules stimulées avec des intensités différentes, deux C 306, C 312 présentent un facteur intensité significatif (cf. tableau C.5).

Pour la cellule C 306, l'analyse du graphique global des lignes (cf. fig. 26a), montre que le facteur est dû à la dernière intensité ; on note en effet une PPDS ( $\alpha 0,05$ ) entre la dernière intensité et la précédente, et de façon plus générale avec les trois premières. Une analyse plus détaillée du graphique ligne par ligne montre que cette PPDS est due essentiellement aux dernières intensités des deux séries de stimulation. On note de plus une interaction  $I \times T$  significative. Il faut remarquer également que la fréquence cellulaire augmente avec l'intensité ; ceci est à priori curieux puisque le courant appliqué est hyperpolarisant.

En ce qui concerne la cellule C 312, le facteur est dû à la PPDS ( $\alpha 0,05$ ) qui existe entre la première et troisième intensité d'une part, et la troisième et quatrième intensité d'autre part (cf. fig. 26b).

Pour cette cellule, contrairement à la précédente, la fréquence cellulaire décroît en fonction de l'intensité.

##### 4.2.2.1. Relation entre la fréquence et l'intensité.

Les régressions effectuées sur ces deux cellules sont significatives (cf. tableau C.6).

La cellule C 306 présente une régression linéaire et quadratique positives. La composante quadratique reflète la différence de valeur de la fréquence moyenne entre la première et deuxième intensité (cf. fig. 26a).

En outre le sens de la régression confirme l'évolution curieuse de la fréquence cellulaire soumise à une stimulation cathodique.

La cellule C 312 présente une régression linéaire négative. Pour cette cellule l'évolution de la fréquence cellulaire est une fonction linéaire de l'intensité. Le sens de la régression traduit une évolution normale compte tenu de la polarité du courant (cf. fig. 26b).



#### 4.2.3. Action globale du courant.

Pour la cellule C 317, on ne note pas d'effet de l'intensité, pour quatre cellules, l'intensité appliquée est la même. Il est intéressant de savoir si le courant a une action globale sur la fréquence cellulaire ; pour cela nous comparons la fréquence moyenne de l'époque de préstimulation à celle de l'époque de stimulation. Les résultats sont les suivants :

|       |          |               |
|-------|----------|---------------|
| C 317 | t = 5    | $\alpha$ 0,01 |
| C 337 | t = 7,08 | $\alpha$ 0,01 |
| C 339 | t = 3,39 | $\alpha$ 0,01 |

Pour les cellules C 336 et C 341, le test n'est pas autorisé en raison de la différence de variance entre les deux époques, on note cependant les écarts suivants sur la fréquence globale :

|       | Préstimulation | Stimulation |
|-------|----------------|-------------|
| C 336 | 43,6           | 11,82       |
| C 341 | 14,04          | 4,49        |

D'une façon générale, sauf pour une cellule, l'application d'un courant cathodique entraîne une diminution très significative, ou nette de la fréquence cellulaire.

#### 4.2.4. Les effets du temps à court terme.

##### 4.2.4.1. Les stimulations de longue durée.

Trois cellules C 336, C 337, C 341 ont été stimulées pendant une durée respective de 22, 22, 30 secondes. Une seule présente un effet temps à court terme significatif (cf. tableau C.5), il est dû à une chute soudaine de la fréquence entre la quatrième et sixième seconde (cf. fig. 27c). Pour les deux autres cellules l'évolution de la fréquence est assez semblable, mais la fréquence décroît plus progressivement au début, ce qui explique que le facteur considéré ne soit pas significatif.

Enfin, il est intéressant de noter (cf. fig. 27c) qu'au bout de dix-huit secondes de stimulation on observe un échappement progressif de la fréquence à l'action du courant, avec une augmentation croissante des intervalles de confiance. Ceci est à rapprocher de ce qui a été dit sur les stimulations de longue durée avec le courant dépolarisant.





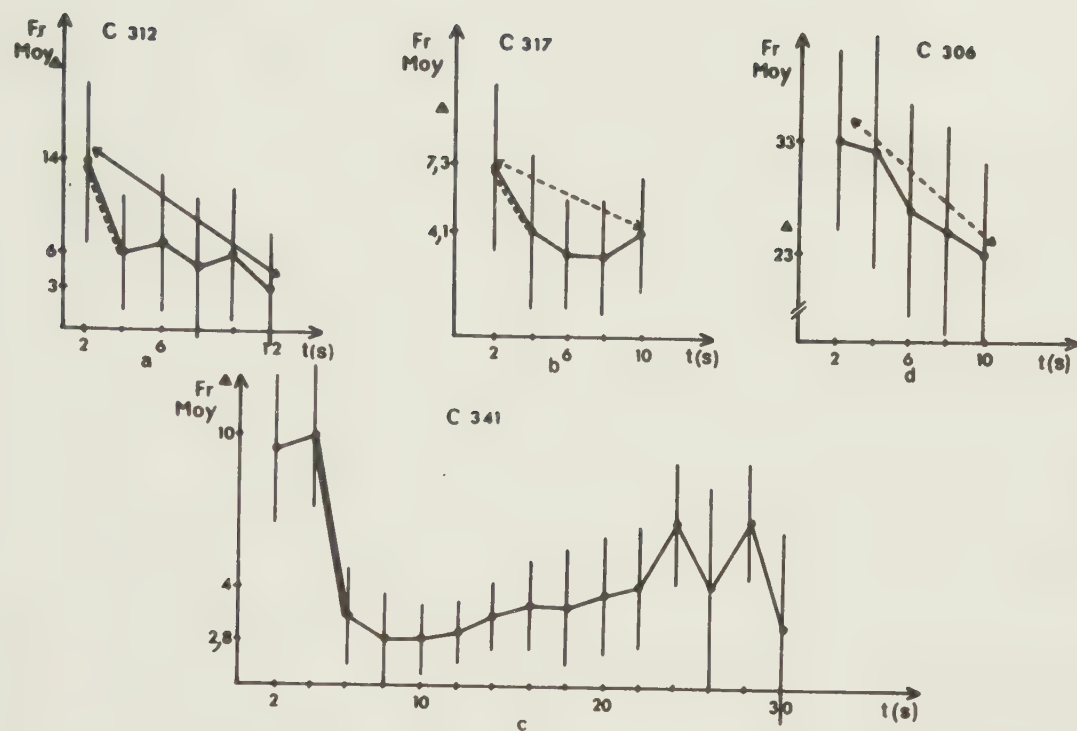


Figure 27

### Stimulation en $DC^-$

Evolution de la fréquence des PA en fonction du temps à court terme, adaptation au  $DC^-$ .



#### 4.2.4.2. Les stimulations de durée normale.

Trois cellules ont été stimulées pendant des durées plus courtes (cf. tableau C.4). Deux présentent un effet temps à court terme significatif et très significatif, l'autre C 317 présente un facteur à la limite de la signification (cf. tableau C.5).

#### 4.2.4.3. Relation entre la fréquence et le temps à court terme.

Les régressions ont été effectuées pour trois cellules C 306, C 312, C 317 (cf. tableau C.6). Le test n'a pu être fait pour la cellule C 341 compte tenu du nombre important (30) de groupes de données.

Les cellules C 306 et C 312 montrent une régression linéaire négative, la cellule C 317 une régression quadratique positive.

En fait, si on regarde les graphiques (cf. fig. 27a.b.c) la tendance générale de la fréquence cellulaire est une stabilisation en plateau qui s'installe rapidement après les deux ou quatre premières secondes de stimulation.

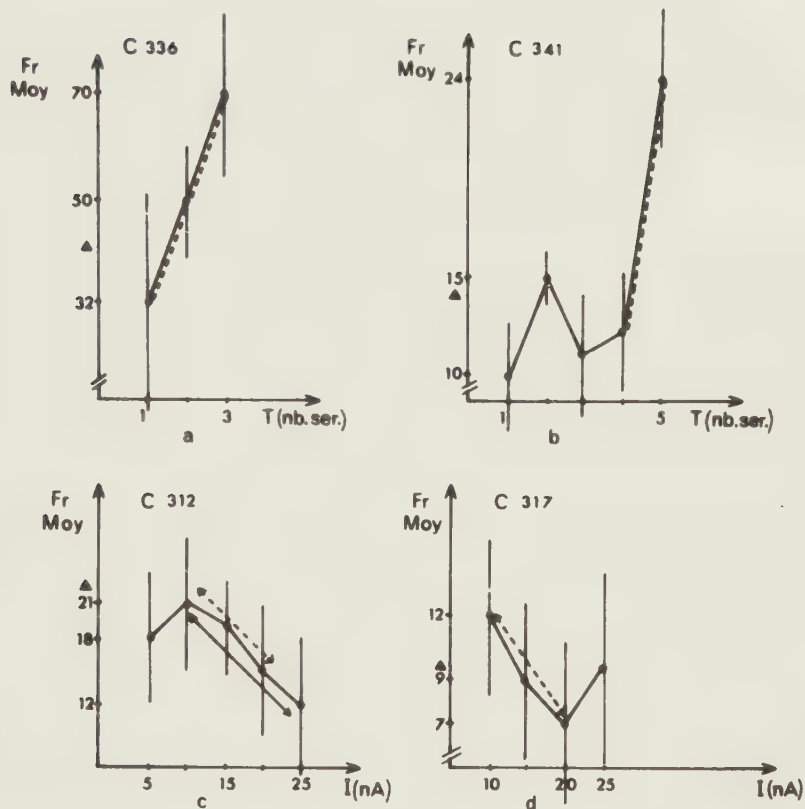
En ce qui concerne la cellule C 306, il n'est pas possible de tenir compte de l'écart observé (cf. fig. 27d). En effet le facteur est à la limite de la signification (cf. supra), l'intervalle de confiance de  $\hat{b}$  est extrêmement étendu  $\hat{b} = -2,62$  (-0,59 et -4,64) ; enfin les intervalles de confiance liés aux valeurs de la fréquence moyenne (cf. fig. 27d) se recouvrent tous assez largement. Il n'est donc pas possible d'interpréter cette évolution dans le sens d'une non habituation au courant comme pourrait le suggérer le graphique.

Dans l'ensemble des cellules, l'évolution du temps à court terme va dans le sens d'une habituation de la fréquence cellulaire au courant hyperpolarisant.

#### 4.2.5. Les effets du temps à long terme.

Trois cellules présentent un effet significatif du temps à long terme (cf. tableau C.5). Ceci traduit donc une évolution de l'efficacité des stimulations en fonction des séries (cf. fig. 26c).





12h2

Figure 28

### Poststimulation en DC<sup>-</sup>

Evolution de la fréquence des PA en fonction de l'intensité c et d, et du temps à long terme a et b.



#### 4.2.5.1. Relation entre la fréquence et le temps à long terme.

Ces trois cellules présentent des régressions significatives (cf. tableau C.6).

Or pendant l'époque de préstimulation il n'y avait pas d'effet significatif de ce facteur. Ceci implique donc que le temps à long terme modifie l'effet des stimulations. Nous maintenons ici les restrictions qui ont été faites quant à l'interprétation d'une telle évolution.

### 4.3. Epoque de poststimulation.

#### 4.3.1. Normalité de la distribution.

Nous avons effectué l'histogramme pour trois cellules. Un seul a une forme gaussienne, mais l'épreuve de la droite de Henri est satisfaisante. Ceci nous a autorisé à poursuivre les tests statistiques. Pour quatre cellules, l'histogramme n'a pu être construit en raison du nombre insuffisant de données (cf. tableau C.8).

#### 4.3.2. Les effets de l'intensité.

Deux cellules C 312 et C 317, ont un facteur intensité significatif.

Pour la cellule C 312, ce facteur est dû d'une part, à un écart significatif entre la deuxième et la quatrième intensité, et d'autre part à un écart entre la deuxième et la dernière intensité (cf. fig. 28c).

Pour la cellule C 317, le facteur est dû à un écart significatif de 0,05 entre la première et la troisième intensité (cf. fig. 28d).

En fait pour ces deux cellules, on note que les intervalles de confiance des différentes valeurs de la fréquence se recouvrent largement. De plus, si l'on compare les valeurs de la fréquence moyenne des époques de préstimulation et de poststimulation il n'y a pas de différence significative.

Par conséquent, malgré la présence d'un facteur intensité, il n'est pas possible de retenir un post effet proportionnel à la valeur des intensités appliquées.





#### 4.3.3. Les effets du temps à court terme.

Une cellule C 317 présente un facteur temps à court terme significatif. L'analyse graphique montre que cet effet est dû à une PPDS ( $\alpha$  0,05) entre la deuxième et huitième seconde après la fin de la stimulation, on pourrait donc penser à un post effet d'une durée de huit secondes. Or, si l'on compare la fréquence moyenne des époques de préstimulation et de poststimulation on ne note aucune différence significative (cf. tableaux C.3 et C.10). Ces arguments ne nous permettent pas de retenir un post effet pour cette cellule.

#### 4.3.4. Les effets du temps à long terme.

Cinq cellules (cf. tableau C.9) présentent un effet du temps à long terme significatif. L'analyse des graphiques (cf. fig. 28a.b) pour deux cellules montre :

- Pour C 336 une PPDS ( $\alpha$  0,05) entre chaque série.
- Pour C 341 une PPDS ( $\alpha$  0,05) entre la quatrième et cinquième série.

Il semble donc exister un post effet lié aux répétitions. Or pour C 341, la fréquence moyenne des périodes de préstimulation et de poststimulation ne présente pas de différence significative. Pour C 336, la différence semble plus nette (43,6 contre 61,33), mais elle n'est pas davantage significative ( $t = 1,85$  ; 0,1 d.d.1 28).

Dans ces conditions il n'est pas possible de retenir un post effet.

### 5. Cellules non stimulées.

Nous avons enregistré six cellules ayant une activité spontanée. Chaque cellule a été enregistrée à des niveaux différents du cortex sensori-moteur. Ces niveaux sont représentés sur l'histogramme figure 16.

La fréquence cellulaire est comprise entre 6,8 et 14,9 PA/S (cf. tableau D.4).



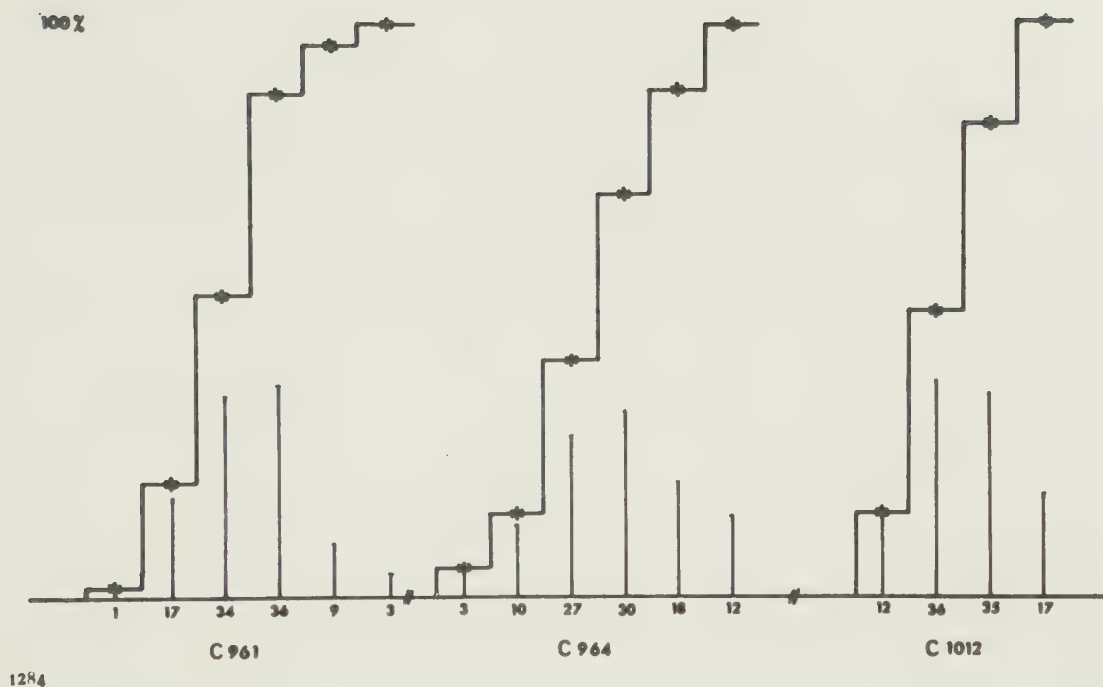


Figure 29

Cellules non stimulées

Histogramme et histogramme cumulé (\*) montrant la répartition approximativement gaussienne des données de l'échantillon.



L'activité unitaire enregistrée, tant pour sa forme que pour son amplitude, correspond à celle décrite (cf. 1.1. et fig. 15).

Le protocole d'enregistrement de l'activité cellulaire est identique à celui décrit pour les stimulations électriques en courant continu (cf. fig. 11).

A aucun moment ces cellules n'ont subi de stimulation en courant continu. Nous avons admis que ces cellules exprimaient une activité de "repos", ou activité "spontanée", non modifiée par des stimulations volontaires.

L'ensemble des méthodes, et des tests statistiques décrits sont appliqués aux traitements de ces cellules.

## 5.1. Résultats.

### 5.1.1. Normalité de la distribution.

L'histogramme construit pour chaque cellule revêt sensiblement la forme gaussienne (cf. fig. 29). L'épreuve de la droite de Henri confirme la normalité de la distribution. Chaque histogramme a été construit avec cent données.

### 5.1.2. L'influence du temps à moyen terme (Tmt).

Le facteur ligne ne traduit plus ici l'effet intensité, mais un facteur temps que nous appellerons effet du "temps à moyen terme".

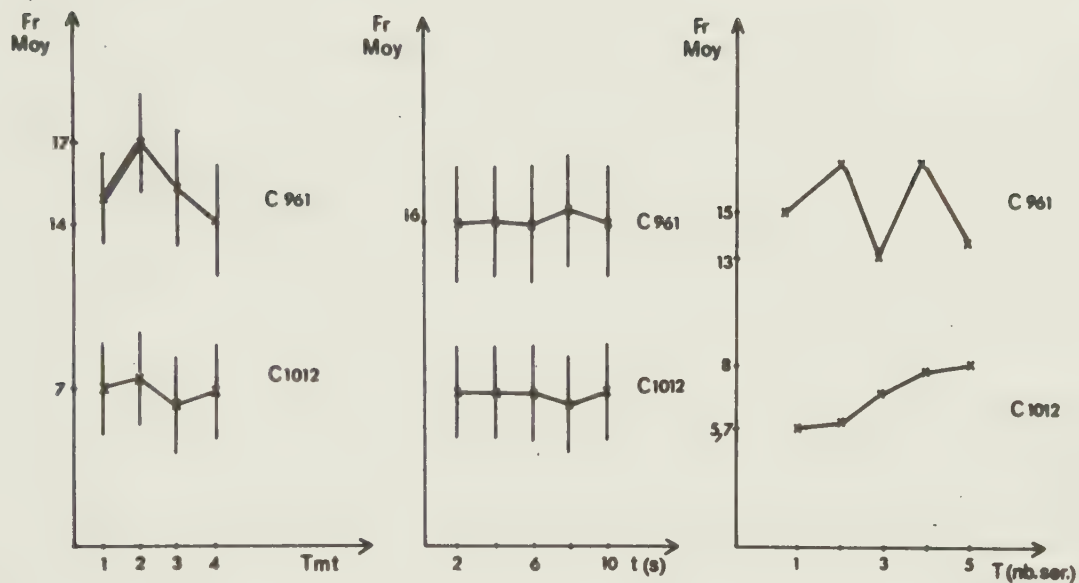
Cet effet se révèle significatif pour deux cellules C 961, C 1011 (cf. tableau D.2).

L'analyse du graphique ligne par ligne montre que cet effet est dû à un écart important de la fréquence moyenne pour :

C 961 : 1ère ligne de la 2ème série  
3ème ligne de la 4ème série  
4ème ligne de la 5ème série

C 1011 : 1ère et 2ème ligne de la 3ème série  
1ère ligne de la 5ème série.





1285

Figure 30

### Cellules témoins

Evolution de la fréquence des PA en fonction du temps à moyen terme, du temps à court terme, et du temps à long terme (cf. le texte).





Il faut noter que l'intervalle de confiance lié à ces moyennes est généralement, mais non systématiquement, plus important.

Ceci traduit dans les faits ce que nous avons dit à propos de la variabilité (cf. II.1).

#### 5.1.3. Les effets du temps à long terme (T).

Pour toutes ces cellules, il apparaît un changement significatif du niveau de l'activité cellulaire en fonction du temps à long terme (cf. tableau D.2) ; cinq cellules présentent une interaction temps à long terme x temps à moyen terme.

L'analyse du tableau intermédiaire ne montre pas d'évolution organisée de la fréquence moyenne.

Les régressions appliquées à cet effet ne permettent pas de dégager une relation simple de l'évolution de la fréquence cellulaire en fonction du temps à long terme (cf. tableau D.3 et fig. 30), sauf pour la cellule C 1012 où l'on note une régression linéaire positive.

#### 5.1.4. Les effets du temps à court terme (t).

Pour les six cellules étudiées, on ne note aucun effet  $t$  significatif (cf. tableau D.2).

L'analyse graphique montre une remarquable stabilité de la fréquence cellulaire en fonction du temps à court terme (cf. fig. 30).

### 5.2. Résumé et conclusion.

Le fait qu'en dehors de toutes stimulations électriques, le temps à moyen terme puisse modifier l'activité cellulaire de manière significative a une double conséquence.

1°) Si cet effet et l'interaction se retrouvent au niveau de l'époque de repos, il ne doit pas être interprété obligatoirement comme une conséquence des stimulations électriques.

2°) Sur les époques de stimulation et de poststimulation, certaines réserves devront être faites, puisqu'au facteur intensité peut se superposer un effet du temps à moyen terme.



Bien qu'en général on note pour le temps à long terme une évolution irrégulière, le fait de trouver un cas d'évolution régulière (cf. fig. 30) doit nous inciter à la plus grande prudence quant aux conclusions que l'on peut tirer à partir des régressions. Il semble en effet que la simple proximité de l'électrode suffit à modifier progressivement l'activité cellulaire sans doute par stimulation mécanique.

La très grande stabilité de la fréquence en fonction du temps à court terme (cf. fig. 30) devrait nous permettre des interprétations plus aisées et des conclusions plus affirmatives sur :

1°) Le post effet éventuel des époques de repos et de poststimulation.

2°) L'évolution de la fréquence moyenne en fonction de  $t$  au cours des stimulations.

Enfin, toutes ces cellules présentent une distribution expérimentale proche de la normalité, ce qui induit une note apaisante quant à l'utilisation des tests paramétriques.



#### IV - DISCUSSION

Nous allons d'abord discuter les limites de validité de nos résultats, puis envisager successivement les problèmes liés aux aspects "intensité", et "durée" de nos stimulations. Enfin nous discuterons quel mode d'action peut en rendre compte, et quelles sont les corrélations possibles entre courants imposés, et courants physiologiques.

##### 1. Limites de validité des résultats.

La technique d'observation et la méthode statistique que nous avons exposées dans les chapitres I et II définissent certaines limites à l'interprétation définitive des résultats présentés dans le chapitre III.

##### 1.1. Critique des techniques d'observation.

Le choix du lapin comme préparation expose au risque permanent de travailler dans des conditions de "spreading depression de LEO" (MARSHALL 1959). A en croire cet auteur celles-ci se trouvent pratiquement réalisées, chez cet animal, par la seule exposition à l'air du cortex (MARSHALL 1951 a).

Un tel état pourrait d'une part rendre compte à priori de la rareté des cellules rencontrées au cours de l'expérimentation, et d'autre part des cellules non actives spontanément ou totalement réfractaires aux stimulations en DC ; enfin et surtout venir perturber leur réponse aux microstimulations électriques (LI 1963).

En fait, nous pensons qu'il est possible d'éliminer l'existence de "spreading depressions" classiques au cours de toutes les expériences retenues dans le lot présenté ici. En effet nous avons éliminé, pour ces raisons, celles qui ont comporté de tels accidents. Ceux-ci sont caractérisés par une variation importante du "steady potential", suivi à partir de la microélectrode, par une disparition de l'activité électrocorticographique puis apparition secondaire d'activité critique et l'inversion des réponses corticales aux chocs électriques locaux. L'ensemble se propage ou non de manière classique. Dans ce cas il devient en effet difficile d'observer et surtout de maintenir une activité unitaire durable. (cf. fig. 32).



Sur les préparations sélectionnées pour ce travail, rien de tel ne s'est manifesté pendant éventuellement plus de deux jours d'enregistrement. Cela peut s'expliquer par les précautions prises pour dégager le cortex puis rapidement le protéger, ainsi que pour assurer en permanence le maintien des équilibres thermique, hydrique (MARSHALL 1951 b) et surtout acido-basique de l'animal (cf. I - 1.4 à 1.7). C'est également une des raisons pour lesquelles nous préférons l'obturation à la cire : en effet l'isolement thermique est meilleur, et la préparation ne se dessèche pas, contrairement à ce qui se passe avec l'agar-agar. La région explorée au niveau unitaire est étudiée en surface à partir de plusieurs électrodes corticales, dont une très proche du lieu de pénétration de la microélectrode (cf. I - 2.1 - 2.5 - 2.5.1 et photo 3). Dans ces conditions il paraît peu vraisemblable que des "dépressions non envahissantes" localisées à cette région aient pu nous échapper, du moins sous leur expression habituelle. On ne peut certes pas en éliminer des manifestations larvées, retentissant sur la seule activité cellulaire étudiée. Mais dans ce cas on doit considérer les phénomènes à une autre échelle, et il devient difficile de parler de "spreading depression de LEAO". Nous verrons par contre qu'un mécanisme très comparable peut participer aux effets de nos stimulations.

### 1.2. Niveaux corticaux et activité unitaire.

L'estimation de la profondeur des cellules étudiées n'a de valeur que statistique, or l'appréciation du contact de la microélectrode avec le cortex est faussée de manière importante par l'épaisseur variable du film liquidien qui le recouvre. En fait la répartition des cellules étudiées ne fait pas apparaître de pic évocateur correspondant aux couches histologiquement lisibles dans la même région (cf. fig. 16). Il n'aurait donc pas été significatif de chercher une éventuelle corrélation entre la profondeur et tel type de comportement dans les réponses cellulaires au DC. La seule que nous ayons tenté, est d'opposer dans cette même figure les cellules affectées ou non par le DC.

On peut retenir qu'à chaque niveau la répartition des cellules activées ou non est assez homogène. Ceci confirme et précise les données de la littérature (CREUTZFELDT et Coll. 1962), (SPELMANN et KAPP, 1964), (PURPURA et McMURTRY, 1965).







Nous devons donc considérer que l'estimation de la profondeur est une donnée qui nous manque.

Nous avons jugé qu'elle n'était pas assez importante dans notre perspective pour justifier le travail considérable d'un marquage et d'une recherche sur coupes sériées des cellules étudiées, avec les suites à très court terme que cela comporte pour la préparation (GROSSEMANN et HAMPTON, 1968), (HOLUBAR et Coll., 1967), (TALBOT et Coll., 1967).

Nous avons souligné (chapitre I) l'importance du contrôle correct d'un certain nombre d'autres paramètres techniques. Celui-ci nous semble assuré dans ce travail d'une manière suffisante pour qu'ils ne risquent pas d'introduire une limitation à la validité de nos résultats.

## 2. Critique des méthodes statistiques d'exploitation.

Nous l'avons évoqué précédemment (chapitre II), la méthode statistique était seule susceptible de dégager des conclusions précises en raison de l'interférence avec nos stimulations de nombreux facteurs incontrôlables.

Son utilisation permet en outre d'accéder à d'autres informations intéressantes comme les augmentations de variance en relation avec les stimulations, qui échappaient en fait aux auteurs travaillant sur des neurones exempts de toute influence intercurrente.

La méthode suivie comporte cependant des limitations, soit d'ordre général, soit liées à notre contexte expérimental particulier, que nous allons préciser.

a) Nous avons rappelé (chapitre II) à quelles conditions l'emploi de la méthode suivie était autorisé. Nos résultats (chapitre III) vérifient qu'elles sont remplies de manière suffisante.

On pouvait s'attendre à ce qu'un comptage d'évènements par unité de temps donne une distribution de données de type poissonien. En fait le contrôle effectué n'est vraiment significatif que pour les relativement rares cellules stimulées présentant une activité de repos, et surtout pour les cellules témoins non stimulées, qui permettent une longue étude de leur "activité spontanée". Ceci permet un échantillonnage plus important, dont le corollaire direct est un histogramme plus significatif.



Pendant les périodes de stimulation en effet, la distribution est modifiée, ceci vraisemblablement par l'action du courant ; ce qui rend d'ailleurs impossible toute application directe du cas des cellules "silencieuses" au repos.

Or, il est remarquable que les distributions ainsi observées soient normales, du moins si l'on admet comme valable l'épreuve de la droite de Henri. Si elles ne le sont pas, elles ne le deviennent pas davantage par l'application de transformations habituellement efficaces.

Dans ces conditions il nous semble que nous sommes généralement autorisés à utiliser les méthodes paramétriques, et à travailler sur les données non transformées. Cependant il est possible que dans tel cas particulier la normalité ne soit pas réalisée ; nous devons par conséquent ne considérer comme significatif que les conclusions ne nous faisant courir qu'un risque d'erreur faible, de préférence inférieur au risque ( $\alpha 0,05$ ) habituel.

b) Nous avons longuement exposé comment se discutait sur le plan méthodologique l'interprétation des tests. Nous l'avons fait à ce stade, parce que cela était nécessaire pour évoquer certains aspects particuliers de notre travail, en particulier la délimitation des échantillons.

L'exploitation simultanée des cellules témoins nous permet maintenant de discuter, dans notre contexte expérimental, une limite supplémentaire à la signification des facteurs simples ; temps à court terme (t), temps à long terme (T), intensité (I).

L'activité des PA cellulaires en fonction du temps à court terme apparaît remarquablement stable sur ces cellules témoins ; il n'est jamais responsable d'un changement significatif de l'activité. Notre confiance peut donc être très grande dans les interventions de ce facteur induit par les stimulations. Nous pouvons à ce niveau courir un risque théorique d'erreur plus élevé ( $\alpha 0,05$  ou  $0,1$ ).

Par contre des variations nettes apparaissent entre les "lignes" regroupées de la même façon que pour les intensités des cellules stimulées. Ces variations sont aléatoires d'une série à l'autre (cf. tableaux) de telle manière qu'il apparaît une interaction intensité x temps à long terme significative.



Dans ces conditions il apparaît nécessaire d'être beaucoup plus circonspect pour interpréter le facteur ligne, c'est-à-dire l'effet des intensités dans le cas des périodes de stimulation. Non seulement il convient de ne courir qu'un risque  $\alpha$  très faible, inférieur à ( $\alpha 0,05$ ) mais encore convient-il d'interpréter les graphiques en fonction du caractère plus ou moins cohérent de leur évolution. Un écart théoriquement significatif ne peut être reconnu comme tel lorsqu'il se situe très nettement en dehors de l'évolution générale de la courbe pour la période de repos.

Il en sera ainsi pour toutes les cellules qui présentent une stabilité correcte des "lignes" au repos, et à fortiori pour les cellules qui n'ont pas d'activité pendant cette période.

### 3. L'intensité des stimulations.

Nos données sont intéressantes à regarder sous l'angle de leur relation avec l'intensité des stimulations. Nous discuterons aussi successivement de l'effet du sens du courant, son seuil d'efficacité, enfin les relations entre l'intensité et la fréquence des PA cellulaires.

#### 3.1. Sens du courant.

Nos résultats montrent que la fréquence des PA est augmentée par un courant anodique (pointe de l'électrode positive) et, à une exception près diminuée par un courant de polarité inverse.

Ceci confirme pour l'essentiel les travaux de (BINDMANN et Coll., 1964), (CALVET et SCHERRER, 1961), (CREUTZFELDT et Coll., 1962), (GERIN et COURJON, 1962), (MORRELL, 1961), (PURPURA et McMURTRY, 1965), (SPEHLMANN et KAPP, 1964), (STRUMWASSER et ROSENTHAL, 1960) effectués au niveau du cortex de chat, lapin, rat, grenouille.

Cependant une cellule C 306 (cf. fig. 26) échappe à la règle générale.

En effet les dernières intensités, pour deux des trois séries de stimulations, augmentent significativement la fréquence moyenne. Cependant si l'on compare la fréquence moyenne globale des PA pour les époques de préstimulation et stimulation on ne note aucune différence (cf. tableaux C.5 et C.10) ; nous reviendrons sur ce point.





Puisqu'il y a inversion des effets du sens du courant on peut faire au moins trois hypothèses pour rendre compte de ce résultat.

1°) Les effets sont inversés parce que nous stimulons des cellules fonctionnellement et morphologiquement différentes des autres. Une telle hypothèse a été soulevée par BINDMANN et Coll. (1964), PURPURA et McMURTRY (1965). Pour ces auteurs il s'agirait de cellules granulaires, ou de cellules étoilées. Ceci suppose que l'inversion des effets doit se rencontrer dans les couches superficielles du cortex où ces cellules sont abondantes.

En effet d'après PURPURA et McMURTRY (1965), toutes les inversions se rencontrent à des profondeurs de quelques microns jusqu'à 200 microns, mais jamais en dessous. BINDMANN et Coll. (1964) ne donnent aucune précision quant à la profondeur où ils rencontrent ces inversions.

En ce qui nous concerne la cellule C 306 a été enregistrée à 1295 microns. Nous ne pouvons donc pas retenir cette hypothèse, à moins de postuler dans cette région et à cette profondeur un cortex hétérogène.

2°) Des inversions dans l'effet du courant sont signalées par (BURNS et SALMOIRAGHI, 1960), (CURTIS et KOISUMI, 1961), (KRNJEVIC et PHILIPS, 1963), lorsqu'ils stimulent des cellules qui émettent des PA négatifs ou positifs de petite taille. Etant donné que nous avons peu de précisions sur les conditions d'enregistrement de ces PA il nous paraît important de distinguer deux cas possibles en nous référant à notre propre expérimentation.

a) Lors de la recherche de l'activité cellulaire nous avons fréquemment enregistré des PA initialement négatifs. Cependant en approchant la microélectrode de la cellule, on assiste progressivement à l'apparition de PA ayant deux phases, l'une négative, l'autre positive. La phase positive augmente en amplitude avec l'approche ; quand l'électrode est à proximité de la cellule la phase négative disparaît complètement. Ceci est confirmé par des travaux récents de ROSENTHAL (1971). Avant d'arriver à ce dernier résultat il est quelquefois nécessaire de mouvoir l'électrode de plusieurs dizaines de microns.





b) Nous avons très souvent observé des PA négatifs, de fréquence élevée, qui se distinguent assez difficilement du bruit de fond. Pour ces raisons nous n'avons pas cherché à les exploiter par nos méthodes. Néanmoins il faut noter que malgré l'approche de l'électrode ces PA restent toujours négatifs, et sensiblement de même amplitude alors même que nous sommes très proches de la cellule ; ce dernier point est confirmé par les fréquentes pénétrations cellulaires, avec lésion irréversible, que nous obtenons.

Dans ces deux cas, nous avons testé le comportement de ces PA au DC. Un courant anodique augmente leur fréquence, un courant cathodique la diminue. Nous n'avons jamais noté d'inversion des effets du DC. Cependant il est difficile de dire s'il s'agit des mêmes phénomènes que ceux observés par les auteurs cités ci-dessus. On ne peut donc pas davantage retenir cette seconde hypothèse.

c) L'inversion des effets du DC peut être le reflet d'une lésion de la membrane cellulaire. Il est en effet bien établi qu'une irritation mécanique, même discrète de cette membrane fait apparaître par dépolarisation soutenue des PA de fréquence élevée avec chute de leur amplitude. La durée de ces PA augmente, leur forme est altérée ; cet état a un caractère irréversible. Lors d'une stimulation ces effets lésionnels sont liés à l'intensité, mais pas à la polarité du courant. En effet dans ces conditions pathologiques, un courant cathodique augmente très souvent la fréquence cellulaire et l'enregistrement se termine par une pénétration.

Pour la cellule C 306 la fréquence augmente de façon nette particulièrement aux fortes intensités, on peut donc déjà suspecter un effet lésionnel transitoire. Cependant on ne retrouve pas ces effets de lésion sur la période de préstimulation ; mais il faut se souvenir que nous avons opéré une délimitation sur la troisième série de stimulation. En effet celle-ci montrait une fréquence moyenne très élevée par rapport aux deux précédentes, indice indiscutable d'une souffrance cellulaire (cf. Chapitre III - 4.1.3). En outre si l'on compare les fréquences moyennes globales pour les périodes de préstimulation et stimulation on ne note pas de différence significative. Donc sur ces deux séries les résultats globaux ne montrent pas à proprement parler une augmentation de la fréquence cellulaire, comme on le note pour les cellules stimulées en DC anodique.



Les arguments que nous venons de développer nous permettent de conclure que cet effet d'inversion est dû à une souffrance cellulaire transitoire, liée à une irritation mécanique de la membrane cellulaire, aggravée par le passage d'intensités élevées, mais sans rapport avec la polarité du courant.

### 3.2. Le seuil d'efficacité des stimulations.

Le seuil d'efficacité de ces microstimulations électriques pose des questions importantes. Il convient avant de discuter nos résultats, de définir les limites de son interprétation et les méthodes de sa détermination.

#### 3.2.1. Limites de l'interprétation du seuil.

Dans le cas de stimulation intracellulaire le courant injecté traverse en totalité la membrane. Le seuil traduit donc clairement l'excitabilité du neurone. La situation est bien différente quand la microélectrode est extracellulaire. Dans ce cas divers paramètres incontrôlables rentrent en jeu : distance entre la microélectrode et la membrane, situation de l'électrode par rapport à ou aux zone(s) gachette (Trigger zone), disposition des espaces extracellulaires. Le seuil, dans ce cas, n'est donc pas un indice aussi précis de l'excitabilité cellulaire elle-même comme l'ont montré (TERZUOLO et BULLOCK, 1956), (STONEY et Coll., 1968).

Par contre il permet de discuter l'éventuelle influence des courants extracellulaires physiologiques sur la probabilité de modifier ou de moduler l'activité cellulaire ; c'est là un point important sur lequel nous reviendrons.

#### 3.2.2. Méthodes de détermination du seuil.

Si le courant liminaire est défini comme celui qui fait apparaître ou modifie l'activité cellulaire, l'appréciation de ce critère n'est pas évidente. A ce point de vue on peut opposer les résultats de SPEHLMANN et KAPP (1964), et de (TERZUOLO et BULLOCK (1956) qui travaillent sur des préparations différentes.



Pour ceux-là, un changement de 50 ./. de l'activité cellulaire apparaît comme une bonne appréciation du seuil, ils soulignent d'ailleurs le caractère arbitraire de ce choix ; pour ceux-ci un changement de 50 à 60 ./. de l'activité cellulaire traduit une activité pathologique lésionnelle. Enfin d'autres estiment subjectivement le seuil sans critère précis, (EULER et GREEN, 1960), (STRUMWASSER et ROSENTHAL, 1960), (GERIN et COURJON, 1962).

Pour notre part nous pouvons déterminer de manière relativement précise deux valeurs :

a) Parmi les intensités testées nous retenons la plus faible qui ait un effet statistiquement significatif (cf. tableau B) ; soit en comparant les moyennes par un test t (cf. chapitre II - 2.), soit en extrapolant la valeur de la PPDS ( $\alpha 0,05$ ) de la période de stimulation jusqu'à la période de repos. Cette dernière interprétation a été faite dans le cas où les cellules ne présentaient pas d'activité de repos. Dans un cas comme dans l'autre la valeur ainsi déterminée est toujours supraliminaire, et le seuil réel lui est d'autant plus inférieur que l'écart observé est plus significatif.

b) La valeur du seuil théorique calculée comme nous l'avons dit par ailleurs (cf. chapitre II - 2.5.2. b) est juste supraliminaire et risque d'être encore un peu forte, on peut en tout cas la considérer comme un maximum.

### 3.2.3. Discussion des résultats.

Nos résultats de stimulation permettent d'opposer deux lots de cellules : les cellules à seuil bas, les cellules à seuil élevé.

#### 3.2.3.1. Les cellules à seuil bas.

Nous disposons de 1/4 cellules dont l'intensité minimale peut être estimée. Elle varie de 2,5 à  $20 \times 10^9$  A. Pour les plus fortes de ces valeurs cependant l'écart avec la fréquence de repos est déjà très important ce qui se reflète dans un risque d'erreur très faible (cf. tableau B). Par exemple pour C 315 en acceptant pour seuil  $20 \times 10^9$  A nous prenons un risque  $\alpha 0,001$ , ceci confirme bien que cette valeur est nettement supraliminaire (cf. supra, a.).





Nous avons 11 cellules pour lesquelles la relation fréquence intensité peut être estimée avec assez de précision pour permettre le calcul du seuil théorique. Celui-ci se situe entre 0,26 et  $9,8 \times 10^{-9}$  A. Il faut évidemment tenir compte d'une très grande marge d'indétermination liée aux intervalles de confiance et de la grande dispersion entre les valeurs extrêmes que nous donnons ci-dessus.

Enfin, plusieurs exemples vont nous servir à démontrer que, au niveau du cortex et dans nos conditions expérimentales, la notion du seuil doit être envisagée avec beaucoup de circonspection.

En effet, la cellule C 339 (cf. fig. 20b) a été stimulée à cinq reprises avec une intensité de même valeur. Il n'a pas été possible de déterminer le seuil de cette cellule, celui-ci varie entre des valeurs supérieures à  $20 \times 10^{-9}$  A, et inférieures à  $10 \times 10^{-9}$  A.

Les cellules C 364 et C 379 ont subi treize et onze séries de stimulations, traitées en trois tranches de plusieurs séries. Pour la cellule C 364, entre chaque tranche de cinq séries, l'électrode était descendue respectivement de 5, 12, 17 microns. Or on constate que l'intensité liminaire et le seuil théorique évoluent parallèlement dans le sens d'une augmentation du seuil (cf. tableaux B et A.8). Ceci démontre bien que ce paramètre dépend étroitement de la position de l'électrode par rapport à la cellule.

Pour la cellule C 379 la position de l'électrode est restée la même, or l'intensité liminaire et le seuil théorique évoluent dans le sens d'une diminution par rapport au seuil initial (cf. tableaux B et A.8). Si on rapproche ce résultat de celui obtenu avec la cellule C 339, il existe de fortes présomptions pour incriminer le temps, ou les répétitions comme responsables des modifications du seuil. Ceci confirme et précise parfaitement les résultats de (TERZUOLO et BULLOCK, 1956), et souligne les difficultés d'interprétations d'un tel paramètre.

Néanmoins l'ensemble de ces résultats est remarquablement cohérent par rapport à ceux de la littérature. On peut en effet conclure que le seuil des cellules corticales peut se situer en dessous de  $1 \times 10^{-9}$  A dans nos conditions expérimentales.





Cette valeur extraordinairement faible est très comparable à celle rapportée au niveau du cerveau de grenouille par STRUMWASSER et ROSENTHAL (1960) et GERIN et COURJON (1962) sur le cortex de mammifères. Dans ce cas il s'agissait d'une estimation subjective du seuil. Il est donc intéressant de les confirmer objectivement, d'autant plus que cela enlève toute originalité au seuil des cellules pyramidales hippocampiques ( $1,8 \times 10^{-9}$  A). EULER et GREEN (1960) pensaient qu'un seuil aussi bas pouvait conférer à cette région des propriétés particulières dans l'initiation de certains processus épileptiques. Cette originalité est également infirmée de façon indirecte par SPEHLMANN et KAPP (1964) qui, au niveau du néocortex de chat trouvent des seuils compris entre  $1 \times 10^{-7}$  et  $1 \times 10^{-9}$  A, soit dans un rapport de 100.

Enfin il est intéressant de noter que le seuil le plus bas que nous avons trouvé est environ 10 fois plus faible que celui noté au niveau des neurones géants d'invertébrés (TERZUOLO et BULLOCK, 1956). D'autre part ces auteurs notent qu'il faut un seuil plus bas pour moduler l'activité d'un neurone actif, et inversement pour un neurone silencieux ou très peu actif. Plus récemment BULLOCK (1968) attache une extrême importance à ce fait, qui pourrait dans une certaine mesure rendre compte de certains processus dans le codage de l'information au niveau cellulaire.

Pour ces deux catégories de cellules, compte tenu de notre méthode de détermination du seuil, nous n'avons pas observé de différence nette de seuil en fonction de l'activité préexistante.

Nous n'avons pas pu étudier comparativement sur les mêmes neurones les seuils en fonction de la polarité du courant. Les neurones que nous avons stimulés étaient au repos, dans la majorité des cas silencieux. Ceux que nous avons "freiné" par un courant négatif auraient été rapidement et irréversiblement lésés par des courants positifs. Ceci avait d'ailleurs fait l'objet d'une expérimentation préliminaire. SPEHLMANN et KAPP (1964) montrent qu'il existe une différence de seuil selon la polarité du courant sur environ 50 % des neurones étudiés. Ceci suggère une rectification de la membrane cellulaire du type de celle décrite par ECCLES (1957), NELSON et FRANK (1967). Mais il s'agit peut-être simplement d'une rectification au niveau de la microélectrode elle-même, facteur dont ces auteurs ne parlent pas.



Pour notre part nous avons systématiquement éliminé les microélectrodes qui présentaient une dissymétrie (cf. chapitre I - 2.2 - 1.4). Nous n'aborderons donc pas ce problème puisque nos stimulations en courant négatif ont été faites sur des cellules différentes, et que nos résultats ne portent que sur une seule cellule C 312.

Notons cependant que dans ce cas le seuil n'est pas plus élevé que pour les stimulations de polarité positive. De toute manière les modifications du seuil au cours du temps sont telles qu'il nous paraît illusoire de vouloir l'interpréter en fonction de la polarité.

### 3.2.3.2. Les cellules à seuil élevé.

A ce premier lot s'oppose celui des cellules à seuil élevé. Elles n'étaient pas activées par des intensités égales à  $50 \times 10^{-9}$  A. Il est évidemment tentant de soulever l'hypothèse qu'il s'agit de cellules particulières tant du point de vue morphologique que physiologique.

On pourrait penser avec SPEHLMANN et KAPP (1964), BINDMANN et Coll. (1964), CREUTZFELDT et Coll. (1962), PURPURA et McMURTRY (1965), qu'il s'agit de cellules morphologiquement distinctes des cellules à seuil bas. Comme ces auteurs, nous n'avons pas fait d'études de marquage qui permettent d'étayer une telle hypothèse. Nous avons cependant montré que ces cellules se rencontraient en proportions égales avec les cellules à seuil bas selon cinq couches corticales. Or si l'on rapproche ce résultat de l'architectonic du cortex, il semble peu vraisemblable que l'on puisse retenir une telle hypothèse.

Du point de vue électrophysiologique on peut éliminer l'hypothèse de cellules gliales. En effet toutes ces cellules répondaient à des chocs corticaux.

Enfin l'analyse de la forme de l'amplitude, de la latence de ces PA évoqués ne permettent pas de conférer à ces cellules une différenciation électrophysiologique particulière.

Dans ce cas le problème posé par ces cellules reste entier.

En conclusion nous avons tenté de définir objectivement par une méthode nouvelle la notion de seuil d'excitabilité au niveau des cellules corticales. Nos résultats comparés à ceux de la littérature sont très cohérents. Néanmoins notre analyse enlève beaucoup de crédibilité à ce paramètre qui nous paraît très discutable. Nos interprétations sont de ce fait très restrictives et ne nous permettent pas de confirmer certaines hypothèses avancées



### 3.3. Relation entre l'intensité et la fréquence.

Les neurophysiologistes ont toujours cherché à dégager une loi reliant la fréquence des PA cellulaires d'un récepteur à l'intensité d'un stimulus physiologique. Nous n'aborderons pas ce problème puisqu'il dépasse notre sujet. Néanmoins il nous a paru intéressant de voir si dans le cadre de notre travail on pouvait dégager une loi simple univoque reliant la fréquence cellulaire des PA à un stimulus non plus physiologique mais physique.

Dans un cas comme dans l'autre nous savons très bien que certaines limites nous sont imposées. En effet si l'on applique une gamme importante de valeurs de stimuli la courbe fréquence-intensité ainsi obtenue a une forme sigmoïde. Sur une telle courbe on peut donc toujours trouver une partie plus ou moins importante qui traduit une relation linéaire entre la fréquence des PA et l'intensité du stimulus. Dans notre cas à fortiori la gamme de valeurs des intensités appliquées est forcément restreinte, de ce fait la mise en évidence d'une relation linéaire doit être interprétée de manière restrictive.

#### 3.3.1. Discussion de nos résultats.

La méthode des régressions polynômiales nous a permis de mettre en évidence une relation linéaire simple pour neuf cellules et complexe pour trois cellules. Nous ne parlerons pas de ces dernières puisqu'une telle expression n'est pas interprétable et ne nous permet pas de conclure. Pour celles-là il serait tentant d'admettre purement et simplement la relation linéaire entre la fréquence et l'intensité. Cependant une telle affirmation n'est pas totalement acceptable. L'analyse des résultats nous oblige à scinder ce lot en deux groupes.

1°) Les cellules pour lesquelles une variation d'intensité détermine un écart significatif sur la fréquence correspondante, mais de façon non systématique (cf. fig. 20 c.d.e).

2°) Les cellules pour lesquelles les variations d'intensités déterminent toujours un écart très significatif sur la fréquence correspondante (cf. fig. 20a).





Pour celles-là il nous paraît indispensable de tenir compte des résultats obtenus avec :

- a) Les cellules non stimulées.
- b) Les cellules stimulées à la même intensité.

Nous avons montré dans un cas comme dans l'autre que le temps intervenait de façon appréciable sur les effets de l'intensité.

Dans ces conditions nous retiendrons comme conclusion des régressions une tendance à la linéarité, les restrictions imposées ne nous permettent pas de conclure de façon plus tranchée.

Pour celles-ci au contraire il semble que l'on puisse affirmer la linéarité avec un risque très faible de se tromper. Comme nous l'avons dit la présence d'un écart systématique et très significatif de la fréquence moyenne des PA pour chaque intensité permet, non pas d'éliminer totalement les effets du temps à moyen terme, mais certainement de les négliger.

De plus l'intensité minimale significative pour ces trois cellules est de  $5 \times 10^{-9}$  A (cf. tableau B), et la fréquence de repos est nulle. Ceci nous autorise à prolonger la courbe de relation fréquence-intensité vers le bas jusqu'à la valeur zéro, ce qui a d'ailleurs été fait pour le calcul du seuil théorique. Dans ces conditions la courbe ainsi extrapolée ne s'infléchirait pas et nous aurions toujours une relation linéaire.

En ce qui concerne les intensités élevées, ici supérieures à  $15 \times 10^{-9}$  A, l'essai n'a pas été fait. Il est donc difficile de dire si la relation linéaire se confirmerait pour le haut de la courbe.

Ceci cependant ne nous paraît pas primordial, car il est évident que nous aboutirions en définitive à un plateau reflétant soit une saturation de la cellule dont la fréquence des PA n'augmenterait plus en fonction des fortes intensités, ou plus vraisemblablement à une chute de la fréquence des PA dû à un blocage cathodique, soit par effet lésionnel dû à ces intensités élevées. Ce dernier point peut être confirmé indirectement puisqu'au moment de l'expérience nous n'avons pas estimé qu'il était souhaitable d'appliquer à ces cellules des intensités supérieures à  $15 \times 10^{-9}$  A.





### 3.3.2. Comparaison de nos résultats avec les données de la littérature.

Nous allons tenter de comparer nos résultats avec ceux de la littérature. Cette comparaison peut se faire sur trois plans.

#### a) Relation entre la fréquence cellulaire et microstimulations extracellulaires.

Pour SPEHLMANN et KAPP (1964) il existe une relation "grossièrement linéaire". Ces auteurs n'ont pas été plus loin dans cette détermination.

GERIN et COURJON (1962) montrent de façon nette qu'il existe une relation linéaire entre la fréquence cellulaire et l'intensité. Seulement ce résultat est obtenu à partir d'une seule série de mesures. Or nous avons montré (cf. chapitre III - 2.2.5) le danger qu'il y avait à établir une telle relation dans ces conditions.

#### b) Relation entre la fréquence cellulaire et les stimulations transcorticales en courant continu.

CREUTZFELDT et Coll. (1962) montrent que dans leurs conditions expérimentales on peut obtenir une assez bonne relation linéaire entre la fréquence cellulaire et les intensités des stimulations. Cependant là encore il semble s'agir de résultats fournis à partir d'une seule série de mesures.

On peut rapprocher l'ensemble de ces résultats de ceux obtenus pour nos six cellules et pour lesquelles nous avons conclu à une tendance linéaire compte tenu de toutes les restrictions que nous avons faites.

### 3.3.3. Comparaison avec des stimulations intracellulaires.

Il n'existe pas à notre connaissance de travaux concernant les relations fréquence-intensité, en études intracellulaires au niveau des cellules corticales, sur une longue période de temps (10 secondes).



~~Nous pouvons cependant comparer certains de nos résultats~~ avec ceux obtenus par stimulation intracellulaire au niveau du motoneurone par GRANIT et Coll. (1963 a,b,c). Ces auteurs montrent qu'il y a une relation linéaire de la fréquence cellulaire et du courant injecté dans la limite des intensités tolérées par la préparation. Ces dernières sont comprises entre 5 et  $40 \times 10^{-9}$  A c'est-à-dire de même valeur que les nôtres.

Or si l'on compare la valeur des pentes telle qu'elle a été définie par FUORTES (1958) soit le nombre de PA/S/nA, on note pour nos trois cellules des valeurs qui sont approximativement 10 fois plus faibles que celles obtenues au niveau du motoneurone.

En conclusion si l'on retient comme acceptables nos critères de détermination de la relation entre la fréquence et l'intensité de stimulation, il semble que pour la première fois on puisse démontrer une telle relation au niveau des cellules corticales. Certes le nombre des cellules est peu important mais il s'explique par les exigences que nous nous sommes imposées. Enfin une telle relation n'est pas en contradiction avec la loi de STEVENS (1959) dans la mesure où l'exposant est égal à l'unité.

#### 4. L'influence du temps sur l'efficacité des stimulations.

Nous avons pu mettre en évidence deux types de facteurs temporels susceptibles d'intervenir dans l'efficacité des stimulations. Nous parlerons successivement du temps à court terme pour discuter des problèmes liés à l'adaptation et au post effet des stimulations, et du temps à long terme pour parler des effets des répartitions.

##### 4.1. L'adaptation de la fréquence des PA au courant continu.

Avant de discuter nos résultats il nous paraît utile de définir brièvement la notion d'adaptation, et donner quelques exemples numériques de la valeur de cette propriété étudiée sur différentes préparations. Une stimulation physiologique continue et constante peut se traduire soit par une émission transitoire de PA au début de la stimulation et parfois après, soit par une émission durable de PA pendant toute la durée de la stimulation. Entre ces deux types de réponses extrêmes il existe de nombreux intermédiaires.



Dans le premier cas la stimulation devient rapidement inefficace ; cette propriété est l'adaptation à la stimulation du système considéré (MARX, 1963).

Ce problème a fait l'objet d'études exhaustives en neurophysiologie et particulièrement au niveau des récepteurs sensoriels. Les récepteurs tactiles s'adaptent très rapidement au bout de 0,5 à 1 seconde, alors que les propriocepteurs musculaires s'adaptent lentement et incomplètement de 5 à 20 secondes (MARX, 1963).

Au niveau du motoneurone de la moelle cette propriété a été étudiée par GRANIT et Coll. (1963 a, b). Ces études montrent que le temps d'adaptation varie selon les neurones étudiés, mais il est toujours extrêmement bref (0,1 à 2 secondes). Ces auteurs soulignent l'analogie entre ces résultats et ceux obtenus sur certains récepteurs sensoriels de crustacés.

CREUTZFELDT et Coll. (1962) montrent par des études intracellulaires au niveau des cellules pyramidales du cortex que l'adaptation à une stimulation au DC est pratiquement atteinte en 0,120 secondes. Ce délai ne dépend pas de l'intensité du courant puisqu'il reste le même alors que l'intensité est triplée.

En partant des stimulations extracellulaires sur des neurones corticaux GERIN et COURJON (1962) montrent une adaptation très rapide de l'ordre de 0,5 secondes. SPEHLMANN et KAPP (1964) estiment que cette période d'adaptation varie de neurone à neurone. Ils donnent des valeurs comprises entre 1 et 5 secondes. Ces auteurs ne donnent pas de précisions quant aux modalités de développement de l'adaptation et semblent lui accorder un intérêt très limité.

#### 4.1.1. Discussion de nos résultats.

Pour notre part il nous a paru intéressant de reprendre cette question, et nous voudrions immédiatement préciser deux points.

1°) La rapidité d'installation du stimulus joue un rôle important dans la détermination de la durée d'adaptation. Toutes nos stimulations ont été faites en appliquant un échelon de tension.

2°) Nous avons dit au début que les intensités appliquées devaient avoir une valeur constante. Or nos calculs pour l'étude de cette propriété regroupent toutes les intensités appliquées pour "séries de stimulations".





Cependant nous n'avons jamais trouvé d'interactions temps à court terme x intensité significative. Ceci signifie que quelle que soit l'intensité appliquée la fréquence cellulaire des PA en fonction du temps à court terme évolue sensiblement de la même manière. Ceci confirme les résultats de CREUTZFELDT et Coll. (1962) (cf. supra).

Nous avons pu mettre en évidence sur toutes nos cellules un fait intéressant et jamais décrit jusque là, qui est l'évolution progressive de la fréquence des PA après le début de la stimulation et pour des durées variables (cf. fig. 22b et 23). Tout se passe comme s'il y avait accumulation progressive de la fréquence des PA au cours du temps et il semble qu'un tel aspect soit caractéristique des stimulations en DC. Le problème est de savoir si une telle réponse a un caractère physiologique ? Dans l'affirmative il serait intéressant de reprendre ce problème à la lumière d'enregistrements intracellulaires pour faire apparaître d'éventuels mécanismes pouvant rendre compte de "trace ou rétention" à l'échelon unitaire.

Quatre cellules présentent une telle évolution pendant toute la durée de la stimulation ; elles ne présentent donc pas de propriété d'adaptation c'est-à-dire que le courant n'atteint jamais son efficacité maximum.

La propriété d'adaptation a été trouvée pour six cellules (cf. fig. 24 et 27) ; elle survient tardivement entre 4 à 6 secondes après le début de la stimulation. La fréquence se stabilise sous forme d'un plateau pour cinq cellules et une décroissance progressive pour une cellule (cf. fig. 24). Il est intéressant de noter que quel que soit le mode d'adaptation la fréquence cellulaire ne retourne jamais à sa valeur de repos. On peut donc penser que l'adaptation au sens strict du mot n'est jamais atteinte. Ceci peut être dû au fait que la durée des stimulations n'est pas suffisante pour atteindre un tel résultat. Nous avons tenté des stimulations de longue durée (cf. fig. 22a et 27c). L'expérience n'a pas été très concluante dans ce sens. Cependant est apparu un nouveau phénomène qui succède à la période d'adaptation. La fréquence cellulaire évolue de façon particulière par échappements et rebonds successifs jusqu'à l'arrêt de la stimulation. Généralement la valeur des intervalles de confiance augmentent, ce qui suggère une augmentation de la dispersion des données. Ce phénomène est également noté après 12 secondes de stimulation, sur une cellule qui ne présente pas de propriété d'adaptation (cf. fig. 22b).





Il semble donc, que quel que soit le mode de réponse de la cellule (adaptée ou non), il existe un temps limite au-delà duquel la fréquence des PA échappe à l'efficacité de la stimulation.

Nous ne connaissons pas les mécanismes qui président à ces différentes évolutions des PA en fonction du temps, puisque nous ignorons le mode d'action du courant. Cependant il serait intéressant de savoir si l'on peut opposer ces deux types de cellules par analogie avec les capteurs sensoriels.

#### 4.1.2. Le post effet des stimulations.

STRUMWASSER et ROSENTHAL (1960) montrent que l'arrêt d'une stimulation extracellulaire en DC dépolarisant détermine trois phénomènes qui sont dans l'ordre : une augmentation, une diminution et une seconde augmentation de la fréquence des PA. La première phase a été appelée "effet OFF" ; l'ensemble peut durer une dizaine de secondes.

SPEHLMANN et KAPP (1964) signalent au contraire que l'arrêt de la stimulation détermine une nette diminution de la fréquence cellulaire qui peut durer plusieurs secondes.

Pour notre part nous avons également observé ce phénomène de post effet (cf. chapitre III - 2.3.2), mais nous n'avons jamais noté sur une même cellule un post effet aussi complexe que celui décrit par les premiers auteurs cités.

Pour une cellule C 308 (cf. fig. 25) nous avons observé une exagération de la fréquence cellulaire. Ce post effet était très important puisqu'il durait huit secondes. Or la comparaison, pour les périodes de préstimulation et de poststimulation, de la fréquence moyenne globale des PA n'a pas été statistiquement possible ; nous n'avons donc pas pu conclure. On peut noter au passage que si nous n'avions pas utilisé les méthodes statistiques nous aurions vraisemblablement admis ce post effet.

Nous avons noté pour deux cellules (cf. fig. 25 b et d) un post effet très bref qui va dans le sens d'une diminution nette et significative de la fréquence cellulaire. Nous retrouvons les résultats de SPEHLMANN et KAPP (1964) et surtout de VORONIN et FESSARD (1969).



Ces derniers auteurs ~~montrent~~ que dans la majorité des cas l'arrêt d'une stimulation en DC dépolarisant détermine ce qu'ils appellent "une rémanence inhibitrice". Grâce à des études intracellulaires ils montrent que de tels effets sont dûs à des propriétés d'adaptation de la membrane excitable.

Notons enfin que nous n'avons jamais pu mettre en évidence de post effet proportionnel à l'intensité, et que toutes les cellules qui n'avaient pas d'activité au repos ne présentaient aucun post effet. Ces résultats suggèrent que le post effet ne dépend pas de l'intensité du stimulus, mais dépendrait surtout du niveau d'activité cellulaire préexistant à la stimulation.

#### 4.2. L'effet du temps à long terme sur la fréquence cellulaire des PA.

Un certain nombre d'auteurs dont nous allons parler ont montré que l'application d'un courant continu anodique sur le cortex, ou à l'échelon unitaire, pour une longue durée de temps modifiait la fréquence des PA. Une expérimentation préalable nous avait également permis de remarquer ce fait. Nous avons appelé cet effet "effet du temps à long terme" pour l'opposer à "l'effet du temps à court terme" qui nous a permis de mettre en évidence la propriété d'adaptation.

RUSINOV (1953) montre chez le lapin que pendant et après l'application d'un courant continu sur la région motrice un stimulus sonore ou lumineux déclenche des mouvements de la patte contro-latérale. De tels effets ne se manifestent pas si le cortex n'est pas stimulé. Cet auteur conclut que le DC crée "un foyer dominant d'excitation" qui permet l'établissement de connexions temporaires entre deux "analyseurs physiologiques".

STRUMWASSER et ROSENTHAL (1960) observent que des stimulations extracellulaires répétées augmentent la probabilité de décharges cellulaires pendant la stimulation, et diminuent la probabilité de décharge de PA spontanés pendant les périodes de non stimulation. En effet une cellule qui était normalement active avant le début des stimulations devient progressivement silencieuse en dehors de ces périodes.

Il semble que les effets répétés des stimulations modifient directement certains mécanismes neuronaux. Il y a ce que STRUMWASSER et ROSENTHAL appellent un "entraînement du neurone".



MORREL (1961) entreprend une élégante et complexe série d'expériences pour démontrer l'action à long terme du courant anodique transcortical sur l'activité unitaire. Parmi celles-ci nous voudrions résumer brièvement l'une d'entre elles.

Cet auteur applique un courant anodique sur le cortex visuel et stimule les voies visuelles avec des éclairs lumineux à 3 C/S. L'activité cellulaire s'organise bientôt en "bursts" qui se synchronisent sur la fréquence des éclairs. Dès que ce "pattern" est obtenu de façon nette l'expérience est arrêtée. Elle est reprise vingt minutes plus tard, mais cette fois sans stimulation du cortex.

La stimulation des voies visuelles par un seul éclair lumineux entraîne la réapparition du pattern d'activité sur le rythme initial de 3 C/S. Une contre expérience sans stimulation corticale ne montre pas de tels effets.

L'auteur conclut qu'il ne fait aucun doute qu'une application de courant anodique au niveau du cortex fait apparaître des mécanismes d'origine encore inconnue, qui au niveau cellulaire jouent un rôle important dans les processus de "mémoire" pour des périodes de longue durée. BINDMANN et Coll. (1964) montrent que si l'on applique un courant continu sur le cortex sensori moteur du rat pendant cinq minutes la forme des potentiels évoqués somesthésiques (P.E.S.) est rapidement altérée. Il est nécessaire d'attendre de 1 à 5 heures avant de retrouver des P.E.S. de forme normale.

Si cette polarisation est appliquée à l'aide d'une micro-électrode pour une durée équivalente la fréquence des PA augmente. Il faut attendre plusieurs heures avant que la fréquence de repos soit restaurée.

#### 4.2.1. Discussion de nos résultats.

Nous n'avons pas, comme les auteurs cités, appliqué des stimulations en courant continu de fortes intensités et pendant de longue durée ; pour nous celle-ci était généralement de dix secondes, mais les stimulations étaient répétées un grand nombre de fois (cf. fig. 11). Il nous a donc paru important de savoir si dans ces conditions on pouvait mettre en évidence un phénomène analogue à celui décrit par les auteurs cités. Nous envisagerons successivement le cas au niveau des cellules témoins, des cellules stimulées, et des comparaisons entre époques de préstimulation et de post-stimulation.





a) Les cellules témoins.

Nous avons montré (cf. chapitre III - 5.1.3.) que la fréquence cellulaire des PA étudiée sur une grande période de temps pouvait évoluer de manière organisée (cf. fig. 30) bien qu'aucune stimulation volontaire n'était appliquée. Deux hypothèses peuvent être faites pour rendre compte de cette observation. Puisque cette cellule présente cet effet on pourrait imaginer qu'une ou des stimulation (s) physiologique (s) dont l'origine nous est inconnue soient la cause d'une telle évolution.

Il semble que l'on puisse rejeter cette hypothèse car il faudrait postuler une stimulation soutenue. Ceci paraît peu vraisemblable si l'on tient compte de la durée importante consacrée à l'enregistrement de cette cellule (30 minutes).

Par contre nous pouvons très bien retenir une stimulation de longue durée due à la présence de la microélectrode au voisinage de la cellule. Il s'agit probablement d'une stimulation permanente, nous avons appelé cette action "effet de proximité".

Les données de cette expérience doivent nous rendre extrêmement prudents pour l'interprétation du temps à long terme.

b) Les cellules stimulées, époque de stimulation.

Un tel effet a été rencontré sur onze cellules, il obéit à une loi simple pour cinq d'entre elles (cf. chapitre III - 2.2.8.).

Il eut été intéressant de comparer une telle évolution entre cellules pour juger de différences éventuelles, ceci n'est pas possible pour trois raisons :

1°) Les cellules témoins nous permettent de penser qu'une telle évolution n'est pas obligatoirement le fait de stimulation par le courant électrique.

2°) Le nombre de points de mesure est différent pour chaque cellule, il nous paraît dans ces conditions difficile de tirer des conclusions d'une éventuelle comparaison.

3°) Les variances pour ces cellules sont significativement différentes, donc pour certaines d'entre elles la comparaison n'est statistiquement pas possible.





Par conséquent même si les objections 1 et 2 pouvaient être minimisées, le nombre de cellules pour lesquelles nous pourrions faire cette comparaison serait très réduit et ne permettrait pas de conclure.

c) Comparaison entre époque de repos et de stimulation.

A notre avis, il est beaucoup plus rigoureux et intéressant de comparer l'évolution de la fréquence de PA soumis à des stimulations de longue durée quand on dispose d'une référence préalable à la stimulation. C'est le cas pour nous puisque nous pouvons pour certaines cellules (cf. chapitre III - 2.2.8.2.) comparer l'évolution entre les périodes de repos et de stimulation.

Pour ces deux cellules les pentes sont nettement plus fortes pendant la période de stimulation que pendant la période de repos.

Pour trois cellules la fréquence des PA des périodes de préstimulation et de poststimulation est nulle.

Par contre la période de stimulation permet d'objectiver une évolution nette.

Donc pour cinq cellules il y a indiscutablement une augmentation significative de la fréquence des PA pendant la période de stimulation. Ceci nous permet de confirmer les résultats des travaux antérieurs. Cette observation nous paraît intéressante pour plusieurs raisons :

C'est la première fois à notre connaissance que l'on peut montrer un tel effet à l'échelon unitaire, exprimé sur une période de temps aussi longue et dans des conditions de détermination bien définies.

Dans la mesure où nous pouvons comparer nos résultats avec ceux des auteurs cités, nous montrons qu'un tel effet peut se manifester avec des intensités très faibles, en moyenne  $15 \times 10^{-9} \text{ A}$  contre  $10 \times 10^{-8} \text{ A}$  pour BINDMANN et Coll. (1964). D'autre part, il ne serait pas nécessaire que le courant continu soit appliqué en permanence. En effet si ce phénomène exprime la mise en jeu de mécanismes liés à un processus de "trace ou de rétention" au niveau cellulaire, ce dernier point nous paraît particulièrement important. Car on peut penser que les variations lentes et permanentes des potentiels électriques physiologiques transcorticaux peuvent jouer un rôle dans ce sens ; nous reviendrons sur cet aspect du problème.

Enfin, du point de vue méthodologique il y a dans ces conditions un moyen simple de rechercher qu'elle est la durée effective de cette rétention au niveau de différentes régions corticales.



## 5. Modes d'action du courant.

L'activation ou le blocage de la fréquence cellulaire des PA au niveau des cellules corticales par un courant anodique et cathodique est en contradiction formelle avec ce qui se passe au niveau de la fibre nerveuse. En effet pour cette dernière un courant anodique l'hyperpolarise et bloque la transmission des PA.

Comment expliquer cette apparente contradiction de fait si on excepte les hypothétiques inversions rapportées au niveau des cellules corticales dont nous avons montré le caractère très discutable.

Plusieurs hypothèses peuvent être proposées. Action directe par dépolarisation du soma. Processus lésionnels. Modifications du milieu extracellulaire.

### 5.1. Action par dépolarisation de la membrane cellulaire.

EHLER et GREEN (1960), SPEHLMANN et KAPP (1964) pensent que si les effets du DC sont différents au niveau des cellules corticales il faut admettre que la membrane du neurone se comporte de manière particulière.

Du fait de la présence de très nombreux éléments synaptiques sur le soma la surface de membrane électriquement excitable est toujours très petite. Le courant qui sort de la microélectrode entre dans la cellule ; il hyperpolariserait cette portion de membrane. Pour STRUMWASSER et ROSENTHAL (1960) cette zone n'excéderait guère la surface de la pointe de la microélectrode ce qui suppose que cette dernière est très proche de la membrane. Il s'établirait alors entre ce point et les parties avoisinantes une d.d.p. déterminant un courant sortant qui dépolariserait d'autres régions de la membrane. C'est cette dépolarisation qui serait responsable de l'activation observée. Pour SPEHLMANN et KAPP (1964) elle devrait toujours concerner, pour être si remarquablement efficace, la zone du segment initial.

Cependant GERIN et COURJON (1962) démontrent sans ambiguïté par une analyse de forme et d'amplitude des PA, confirmée par ROSENTHAL (1971), qu'il n'est pas nécessaire que l'électrode soit près du soma pour obtenir une action efficace du courant continu.



Ils montrent en effet à propos d'enregistrements et stimulations simultanées de deux cellules que l'on peut observer une moindre efficacité du courant sur le neurone le plus proche, si du moins on retient comme tel celui qui donne des PA d'emblée positifs et de plus grande amplitude.

Ceci suggère plusieurs hypothèses.

- Il existerait sur le neurone une ou plusieurs trigger zone fonctionnellement analogue au segment initial.

- Le courant agirait par un mécanisme différent de celui proposé par les auteurs précédents.

- Plus simplement il ne serait pas nécessaire de postuler que l'action de la stimulation soit très localisée comme le pensent STRUMWASSER et ROSENTHAL (1960).

D'autres auteurs avancent la possibilité d'intervention de mécanismes différents. Ainsi GORMAN (1967) pense que le modèle classique qui consiste à raisonner exclusivement à partir d'une action électrique directe sur la membrane est beaucoup trop simple. Pour cet auteur l'action électrique ne peut être mise en doute. Mais ses résultats expérimentaux lui permettent de conclure à des effets synaptiques secondaires qui interviendraient de façon nette dans le processus de dépolarisation cellulaire.

Enfin tous les auteurs cités se sont posés la question de savoir si une modification ionique du milieu extracellulaire induite par les fuites de l'électrolyte contenu dans la microélectrode (KCL) pouvait jouer un rôle. SPEHLMANN et KAPP (1964) ont montré par des expériences dans lesquelles ils avaient remplacé le KCL, par une autre solution (NaCl), que l'action du courant n'était pas modifiée. Ils concluent que l'extrusion ionique passive et active ne joue aucun rôle.

## 5.2. Discussion de nos résultats.

Nos résultats ne nous permettent pas de trancher la question sur le fond. Néanmoins ils nous permettent de discuter un certain nombre de points.

Nous savons que le mode d'action des stimulations intracellulaires est simple. Le courant injecté élève le potentiel de la cellule, cette dépolarisation entraîne une émission de PA.





La relation qui rend le mieux compte de ce fait est celle qui existe entre l'intensité des stimulations et la fréquence des PA, cette relation est linéaire (GRANIT et Coll., 1966 a,b), (GRANIT, 1964), (FUORTES et MANTEGAZZINI, 1962), (GRANIT et Coll., 1963 a,b), (CREUTZFELDT et Coll., 1966 b), (cf. également 3.3.3.).

Nous avons montré que neuf cellules obéissent à une relation semblable dont trois de manière indiscutable (cf. fig. 20). Nous pouvons donc par analogie admettre que cette relation est la même pour les deux types de stimulation avec cependant une pente, c'est-à-dire une efficacité, dix fois moindre. Cette analogie des relations ne permet pourtant pas de conclure à une identité des modes d'action. Néanmoins une telle relation suppose un bon contrôle du potentiel de membrane et ceci pour une période de temps assez longue. Il est malgré tout bien évident que les effets de nos stimulations consistent en simples modulations de l'activité des neurones et non en une prise de contrôle absolue de cette activité, comme c'est le cas des cellules stimulées par voie endocellulaire. Il n'y a pas cependant opposition irréductible si l'on considère que de toute manière le segment initial est toujours concerné puisque c'est à son niveau que l'activité de PA prend naissance. On pourrait donc à priori accepter l'hypothèse de SPEHLMANN et KAPP (1964) et admettre que l'électrode se trouvait dans une région favorable, c'est-à-dire précisément le segment initial.

Cependant cette notion de proximité et de localisation privilégiées peut être discutée à la lumière des résultats obtenus pour C 364 (cf. tableau A.7).

Rappelons que cette cellule a été stimulée et traitée en trois tranches de (n) séries. Pour chaque tranche on obtient une excellente relation linéaire entre la fréquence des PA et l'intensité. Or entre la première et la troisième tranche, l'électrode a été descendue de 29 microns. Les pentes des relations linéaires sont respectivement de 1,48 et 3,45 et les intervalles de confiance ne se recouvrent pas, elles sont donc différentes (cf. tableau A.7). Ceci démontre qu'il n'est pas nécessaire d'être à proximité de la cellule pour avoir une action efficace du courant, mais que la position de l'électrode module seulement l'efficacité de la stimulation.





Appliquée au schéma de STRUMWASSER et ROSENTHAL (1960), SPEHLMANN et KAPP (1964), cette constatation implique contrairement à l'hypothèse de ces auteurs, la possibilité d'agir à distance ; c'est-à-dire dans des conditions où le courant de stimulation doit diffuser largement dans les espaces extracellulaires autour de l'électrode. Ceci suppose que la quantité de courant qui atteint la membrane soit très faible et surtout que la surface de membrane hyperpolarisée soit beaucoup plus importante que ces auteurs ne le pensaient.

Mais cette large zone d'hyperpolarisation devrait pouvoir s'étendre à la "zone gachette" du segment initial en fonction de la position respective de la microélectrode et du neurone. Or ceci devrait se traduire par une inversion de l'effet. Le fait que nous ne l'ayons jamais observée (l'unique exception semble relever, nous l'avons vu, d'un effet lésionnel), nous semble devoir faire rejeter une telle explication de l'effet du courant.

Cette conclusion qui confirme et complète les résultats de COURJON et GERIN (1962) apporte aussi des modifications importantes dans celle de EULER et GREEN (1960), STRUMWASSER et ROSENTHAL (1960), SPEHLMANN et KAPP (1964).

Si, comme l'ont postulé ces auteurs, le mode d'action est une hyperpolarisation de la membrane cellulaire, il faut admettre une spécificité topographique impliquant des voies de passage préférentielles pour les courants de stimulation ; ceci quelle que soit la position de la microélectrode par rapport à la cellule.

Nous pensons pouvoir proposer l'hypothèse suivante pour rendre compte du mode d'action.

Si l'on considère l'espace conducteur constitué par le tissu cérébral, on peut estimer que les meilleures voies de conduction électrique sont fournies par les espaces intracellulaires, dont les longs prolongements, en particulier les neurites, constituent des câbles à faible conductivité mais sans discontinuité, par opposition aux espaces extracellulaires. Ceux-ci sont très réduits, cloisonnés par de multiples connexions intercellulaires. Ainsi, les meilleures voies de diffusion du courant autour de la pointe de la microélectrode peuvent-elles être considérées comme constituées par les prolongements cellulaires neuronaux.



Ainsi s'expliquerait l'apport électif de courant au niveau des portions du neurones riches en synapses. Ceci donc en dehors du segment initial qui constituerait toujours la zone de sortie du courant, donc la zone dépolarisée indirectement par un courant s'écoulant de la microélectrode, quelle que soit la distance et la position relative de celle-ci.

#### 5.2.1. Action par processus lésionnel.

Tous les auteurs cités précédemment ont soulevé l'hypothèse d'une souffrance cellulaire par lésion mécanique de la membrane du fait de la proximité de la microélectrode. Nous admettons avec ceux-ci qu'une telle possibilité se rencontre trop fréquemment. Cependant, le plus souvent, l'activité enregistrée est dégradée, et l'on aboutit à la lésion cellulaire irréversible à plus ou moins brève échéance. Cet aspect est bien connu et n'échappe à personne, de tels cas ont été éliminés de notre étude.

Par contre, nous avons bien constaté comme STRUMWASSER et ROSENTHAL (1960), BINDMAN et Coll. (1964), que des courants trop intenses quelle que soit leur polarité, peuvent entraîner une pénétration membranaire. Cet effet lésionnel peut à lui seul jouer un rôle analogue à celui d'une stimulation positive, à fortiori si l'électrode est très proche de la cellule. Nous avons vu qu'il explique sans doute notre cas unique de pseudo inversion de l'effet du courant.

Enfin, même en l'absence de stimulation, nous avons montré, avec nos "cellules témoins" ce que nous avons appelé "l'effet de proximité". Action beaucoup plus discrète mais néanmoins réelle qui ne revêt jamais le caractère dramatique de la lésion classique. Cet effet peut interférer avec la stimulation. Quel que soit le mode d'action du courant invoqué il n'est jamais possible de l'éliminer complètement.

#### 5.2.2. Modification de l'espace cellulaire.

Le problème posé ici est de savoir si des modifications ioniques dans le milieu extracellulaire peuvent agir soit directement sur le neurone pour modifier son activité, soit jouer un rôle important et complémentaire dans l'action du courant.





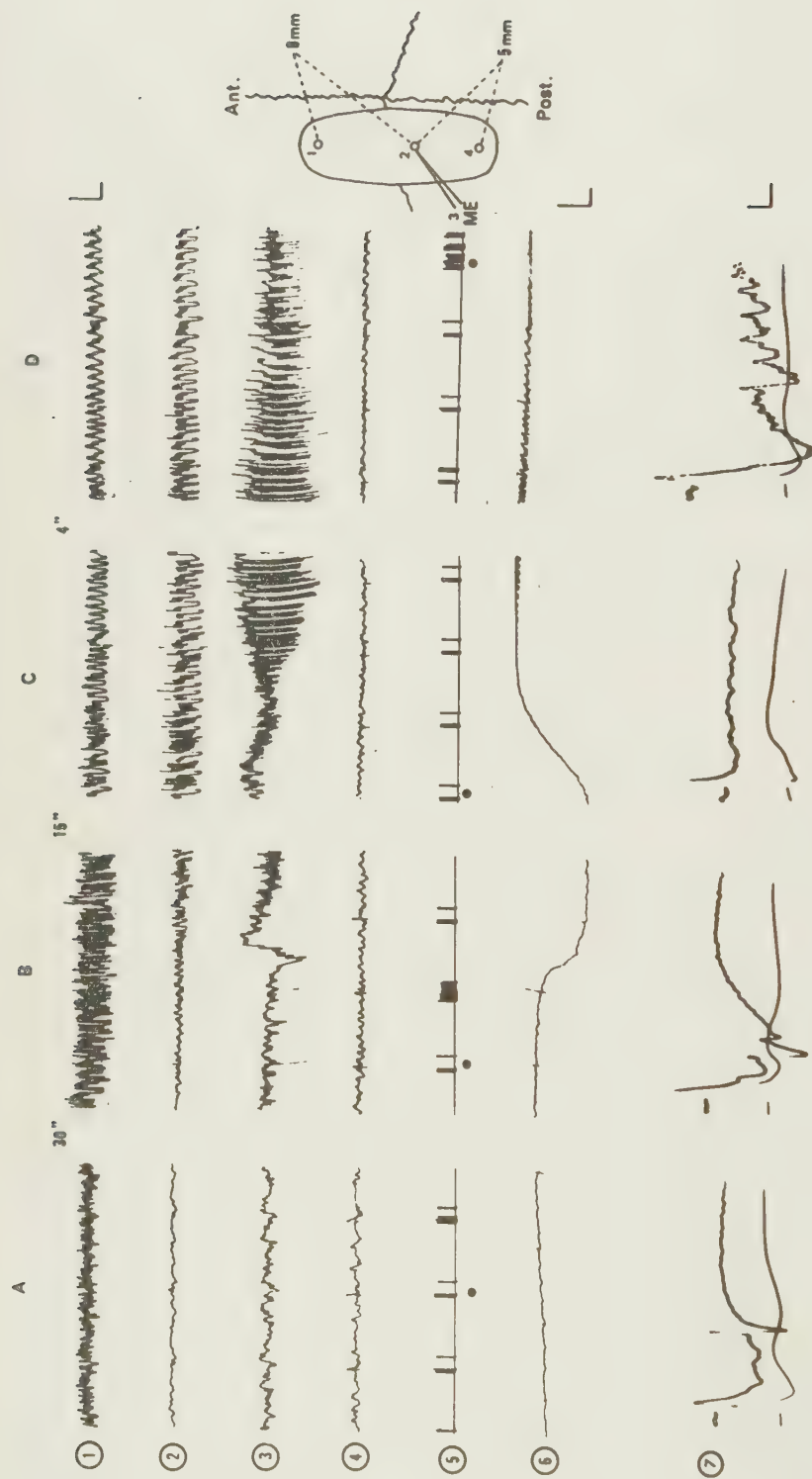


Figure 32

## Légende de la Figure 32

- 1 2 4 EEG enregistré par électrodes corticales.
- 3 EEG recueilli par la microélectrode (ME), profondeur 1850  $\mu$
- 5 PA transformés en impulsions, les points représentent la sélection présentée sur la ligne 7.
- 6 Potentiel continu enregistré par la ME 3.
- 7 Potentiels d'action et réponse lente corticale directe évoqués par les chocs corticaux.
  
- A Activité EEG normale. L'activité de PA est assez pauvre ; ceux-ci peuvent être normalement évoqués de même que la réponse corticale directe.
  
- B La crise s'installe progressivement sur les régions corticales 1 et 2, et en profondeur. Parallèlement à une grande variation du potentiel continu, on note une importante et spontanée émission de PA de haute fréquence et de relativement brève durée. Les chocs corticaux font apparaître plusieurs PA de courte latence et d'amplitude réduite. Ceci traduit l'augmentation de l'excitabilité due à la dépolarisation globale.
  
- C La crise se développe complètement en surface et en profondeur ; elle reste très localisée aux régions corticales 1 et 2. La cellule est complètement dépolarisée et les chocs corticaux ne déclenchent plus de PA. La réponse corticale directe est inversée.
  
- D Restauration progressive de l'état antérieur. Le potentiel continu s'inverse et tend à reprendre sa valeur normale. Les chocs corticaux évoquent à nouveau des PA ; ceux-ci se présentent sous forme de salve, leur forme est dégradée traduisant encore un niveau élevé de dépolarisation cellulaire.

|                  |                                     |            |
|------------------|-------------------------------------|------------|
| Calibration EEG. | dérivations 1 2 3 4                 | 1 S 2 mV.  |
| "                | dérivation 6 amplification continue | 1 S 10 mV. |
| "                | dérivation 7 PA évoqués             | 1 mS 1 mV. |





Deux éventualités peuvent être envisagées.

1°) L'apport ionique dû à la microélectrode ; cette question a été définitivement réglée par SPEILMANN et KAPP (1964 cf. supra).

2°) L'approche de la microélectrode au voisinage du neurone à étudier crée inévitablement des lésions de neurones, des cellules gliales et d'autres structures de l'environnement.

Dans ces conditions le neurone enregistré se trouve dans un espace extracellulaire remanié non physiologique car les diverses lésions libèrent une certaine quantité d'ions  $K^+$  qui viennent s'accumuler dans cet espace restreint.

Il est bien connu qu'à l'approche d'une électrode, un neurone émet quelquefois des salves de PA de fréquence élevée pendant plusieurs secondes ; puis cette activité décroît et peut même s'annuler. Ceci est tout à fait comparable à la souffrance membranaire évoquée plus haut. Cependant si, après cette manifestation, on stimule ce neurone soit directement, soit par des voies physiologiques, il émet des PA de forme normale, il n'y a pas eu de lésion irréversible. L'activité peut être exploitée pendant de longue période de temps. Ce caractère très particulier est généralement accentué si l'on utilise des électrodes de métal. Ceci pourrait suggérer que c'est une des raisons, indépendamment de leur forme, pour lesquelles on enregistre avec ces électrodes des activités pluricellulaires d'une extrême richesse.

Il nous semble que cette réaction cellulaire passagère s'explique bien par les perturbations du milieu extracellulaire créées par l'avance de la microélectrode.

En effet il a été démontré (GRAFSTEIN, 1956) qu'une libération d'ions  $K^+$  dans le milieu extracellulaire dépolarise le neurone, au point même d'atteindre le blocage cathodique.

Ce phénomène est surtout observé lors de "SPREADING DEPRESSION de LEO" du type de celle illustrée figure 32. Il nous semble donc qu'un mécanisme semblable pourrait être en jeu lors de l'approche de la microélectrode, celle-ci créant autour d'elle une "micro-dépression de LEO" localisée. Dans ces conditions, l'application d'un courant positif tendrait à mobiliser les ions  $K^+$  qui s'écouleraient par les espaces interstitiels, notamment autour du neurone étudié. Celui-ci verrait donc son atmosphère ambiante s'enrichir en ions  $K^+$  et par conséquent sa polarisation diminuerait.



Cependant les ions tendent à diffuser dans les espaces environnants ce qui implique que ce mode d'action éventuel doit être de courte durée. Il faut donc postuler un mécanisme susceptible de maintenir dans ce milieu une certaine richesse en ions  $K^+$ .

Pour cela, nous allons faire appel aux travaux de GROSSMAN et HAMPTON (1968), ORKAND et NICHOLLS (1966), ORKAND (1969). Ces auteurs montrent que lorsqu'il existe une activité de PA intense spontanée et surtout provoquée, les espaces extracellulaires s'enrichissent en ions  $K^+$  et les cellules gliales se dépolarisent obéissant strictement à la loi de NERNST. Ces cellules seraient extrêmement sensibles à une légère augmentation d'ions  $K^+$  dans le milieu externe. Leur dépolarisation serait très rapide 2 à 5 secondes, et la repolarisation beaucoup plus lente 5 à 13 secondes. Ceci pourrait bien être un des mécanismes possibles pour maintenir cette richesse en ions dans l'espace créé par la microélectrode (cf. schéma). Dans ces conditions l'efficacité du courant serait aléatoire puisqu'elle serait dépendante du nombre d'ions  $K^+$  du milieu où se trouve la microélectrode. Un tel mode d'action pourrait éventuellement rendre compte de l'effet global des stimulations, de même que l'action aléatoire et ininterprétable du courant que nous avons décrit pour certaines cellules.

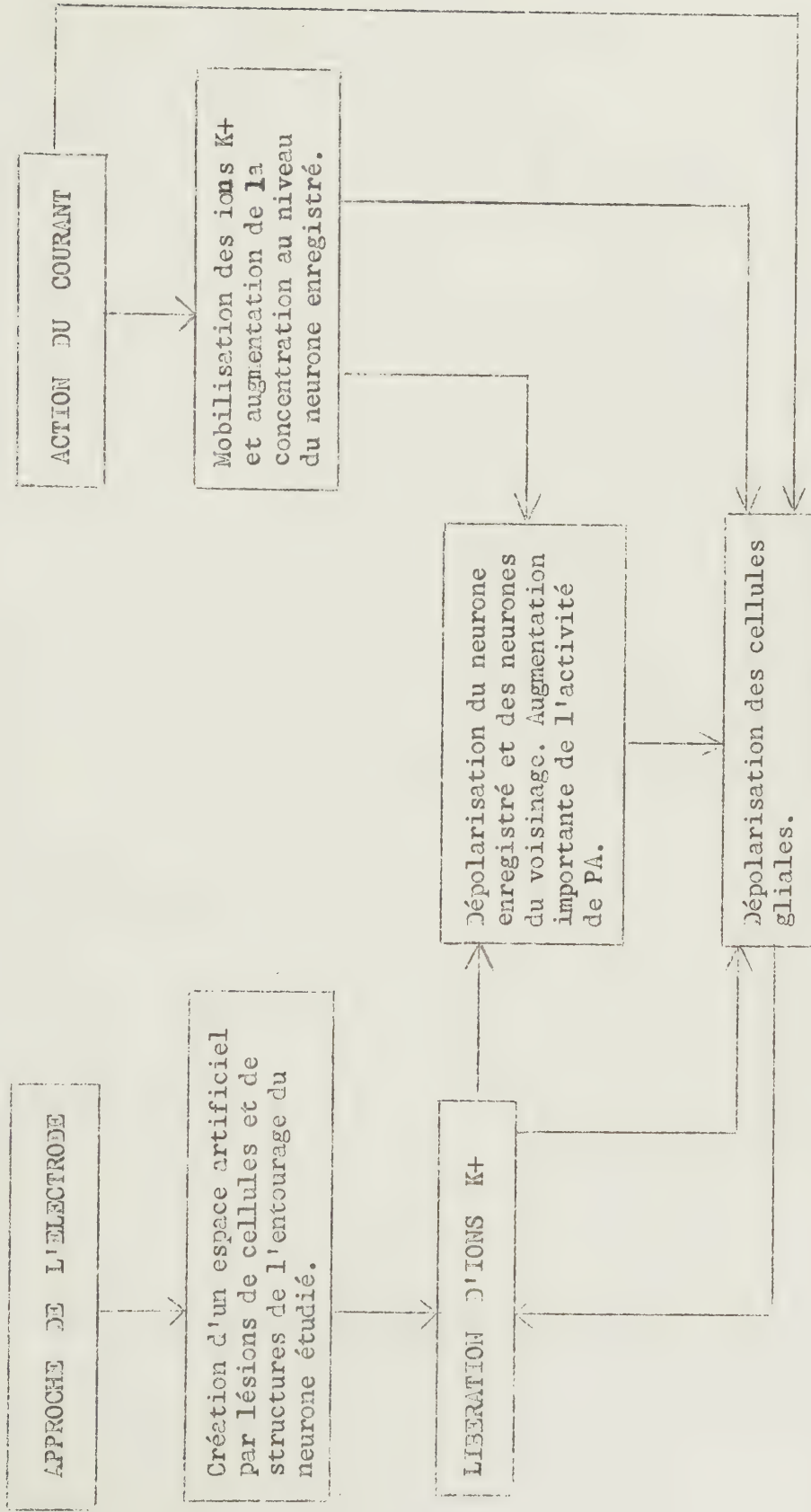
### 5.3.2. Intervention d'une action synaptique.

On peut également soulever l'hypothèse de l'intervention de phénomènes synaptiques comme le suggère GORMAN (1963). Nos résultats ne nous permettent pas de discuter ce dernier point. Cependant dans le cas d'une stimulation électrique extracellulaire, on ne peut pas ne pas admettre que le courant agit sur les terminaisons synaptiques. Comme pour la membrane cellulaire cette action serait dépolarisante. Or, si un certain nombre de ces terminaisons sont dépolarisées, les volées d'influx afférentes devraient être moins efficaces. Ceci retentirait sur la libération du transmetteur synaptique, dans le sens d'une diminution de l'activité cellulaire. Ceci ne rend pas compte de la réalité expérimentale.

Pour rendre compte de cette dernière on pourrait faire au moins une hypothèse.



Schéma proposé pour rendre compte d'un mode d'action du courant  
par modifications ioniques des espaces extracellulaires







La membrane des boutons synaptiques réagirait au courant anodique comme la fibre nerveuse. Celui-ci, dans ce cas, hyperpolariserait ces terminaisons et les volées afférentes seraient plus efficaces sur la transmission du médiateur chimique. La conséquence serait une augmentation de l'activité cellulaire des PA.

Nous venons de discuter d'un certain nombre de modes d'action. Le plus plausible pour expliquer certains de nos résultats semble être la dépolarisation du segment initial par des voies de conduction préférentielles. C'est une conclusion intéressante car elle suggère que l'effet ou l'absence d'effet de courant de stimulation extracellulaire, sur tel ou tel type d'activité unitaire peut devenir un argument pour ou contre son origine au niveau du SI, elle permet en outre de discuter la participation de ce dernier dans le déclenchement de cette activité. Cette façon de voir est illustrée par le fait que certaines activités caractéristiques rencontrées dans les processus épileptiques ne sont pas modifiées par stimulations endo ou extracellulaires. Il semble donc que cette activité ne prenne pas naissance dans la région du segment initial. Or, du point de vue pratique il est beaucoup facile de faire des stimulations extracellulaires d'où l'intérêt de pouvoir tirer des conclusions de ces dernières.

## 6. Corrélations possibles entre le courant continu imposé et les courants physiologiques corticaux.

Les variations de potentiel recueillies par les enregistrements électrophysiologiques déterminent des courants à travers les tissus nerveux. Il y a longtemps que l'on a posé la question de leurs éventuelles interventions dans le déclenchement ou la modulation de l'activité neuronale, et par là dans sa synchronisation.

Nous allons faire un rappel des concepts actuels, et nous verrons dans quelle mesure nos résultats s'y insèrent.

### 6.1. Les gradients de potentiels.

Ils sont de deux sortes : les potentiels soutenus, et l'activité de type E.E.G. habituelle.





### 6.1.1. Les potentiels soutenus.

Les potentiels soutenus sont des différences de potentiels permanentes, lentement variables observées soit entre la surface du cortex et sa profondeur ou un ventricule latéral, soit une région de la convexité et une zone de référence située à distance (O'LEARY, 1964). Leur enregistrement se heurte aux difficultés techniques inhérentes à l'amplification en courant continu et à l'emploi d'électrodes dites "impolarisables", et cela d'autant plus sévèrement que les tensions en jeu sont très faibles de l'ordre de 3,5 mV, et plus encore leurs lentes variations physiologiques de l'ordre de 0,1 mV. Il n'est donc pas surprenant que les résultats présentés soient assez divergents ; globalement cependant il est démontré que la surface est négative par rapport à la profondeur.

On note des modifications relativement modérées de ce potentiel dans certaines conditions physiologiques (sommeil). Par contre ce potentiel peut s'annuler ou s'inverser en cas d'activité pathologique telles que "spreading depression de LEO", ou crise d'épilepsie. Dans certains cas, cette variation de potentiel peut être plus marquée dans les couches profondes du cortex qu'en surface.

### 6.1.2. Les potentiels du type E.E.G.

Les variations du type E.E.G. reposent sur des gradients de potentiels orientés dans les trois directions.

Parallèlement à la surface des potentiels différents sont recueillis à quelques dizaines de microns d'écart (ELUL, 1962). Perpendiculairement à la surface des gradients importants et divers s'échelonnent sur toute l'épaisseur du cortex (CALVET et Coll., 1964).

Ces divers gradients ont sans doute des significations différentes puisque l'on a démontré par ailleurs que l'organisation du cortex se fait en colonnes verticales juxtaposées en nid d'abeille pour le cortex visuel, auditif. On peut penser que les gradients verticaux correspondent à l'organisation interne de ces unités fonctionnelles, les gradients horizontaux à la relative indépendance entre unités voisines.



## 6.2. Les corrélations entre gradients et activité de PA.

La corrélation entre ces divers gradients et l'activité unitaire de PA a été étudiée par divers auteurs avec des conclusions souvent discordantes, mais que nos résultats, semble-t-il, peuvent permettre de rendre plus cohérents.

1°) En ce qui concerne les variations lentes du potentiel stable, on remarque une augmentation de la richesse des PA parallèlement à un accroissement de la polarisation négative de la surface et inversement. Le cas le plus schématique est représenté par la "spreading depression de LEO" (cf. fig. 32) dans laquelle il se produit une activation passagère et intense du neurone bientôt bloquée par une dépolarisation extrême.

Cette corrélation recouvre-t-elle une causalité et de quel sens ? D'après nos conclusions, une positivation de l'espace extracellulaire de très faible valeur suffit certes à accroître l'activité neuronale, ou même à la faire apparaître, mais cet effet est limité dans le temps puisque nous avons montré qu'au bout d'une dizaine de secondes dans les cas les plus favorables il tend à s'atténuer ou à disparaître. Ceci est vrai pour des courants de polarité inverse.

Pour cette raison, du fait de cette adaptation, on ne devrait donc pas retenir la possibilité de causalité entre ces courants soutenus et l'activité de PA. Enfin, les essais de polarisation transcorticale ont montré que la polarité du courant efficace est contraire à la polarité des courants spontanés physiologiques et que l'intensité nécessaire était très supérieure environ 10 fois (cf. CREUTZFELDT et Coll., 1962).

2°) En ce qui concerne les variations de potentiel de type E.E.G., (et même certaines fluctuations relativement brèves du potentiel lent sous tendant des bouffées de fuseaux, ou des pointes corticales) les essais de corrélation ont été multiples à propos d'activités évoquées surtout mais aussi d'activités spontanées. Ils paraissent souvent contradictoires. Aussi CREUTZFELDT (1966 b) retient des résultats montrant des corrélations de sens inverse alors que FROMM et Coll. (1964) retiennent des résultats qui ne montrent aucune corrélation.



En fait cette diversité de résultats s'explique de deux façons :

a) Suivant l'emplacement et le montage des électrodes captant l'activité E.E.G. on recueille des gradients de l'un des deux types opposés ci-dessus.

b) Seuls les gradients transcorticaux sont corrélés avec l'activité unitaire (CALVET et SCHERRER, 1961), (CALVET et Coll., 1964), et de manière opposée suivant le niveau cortical auquel on les observe. Ce dernier point s'accorde bien avec les corrélations démontrées entre la polarité des PPS et celle des ondes E.E.G. dans le cas de fuseaux ou de "recruiting responses" (POLLEN in CREUTZFELDT, 1966 b), certaines ondes surface négative correspondent à des PPSE, d'autres à des PPSI (LI, 1963), (POLLEN, 1964), (STEFANIS, 1964).

Si ces PPS sont à l'origine des ondes E.E.G., et même comme le montre LI (1963) avec une certaine proportionnalité entre leurs amplitudes réciproques, on peut se demander si les courants extracellulaires qu'ils produisent ne sont pas susceptibles de moduler l'excitabilité des neurones. Il y aurait donc là une relation de causalité dans le sens E.E.G. activité unitaire. Ce point est remarquablement mis en lumière par les travaux de CALVET et SCHERRER (1961). Ces auteurs montrent que les gradients imposés par stimulation transcorticale, sont sensiblement du même ordre que les gradients de potentiels physiologiques.

Or les seuils remarquablement bas que nous avons trouvés, et qui correspondent à des gradients de type E.E.G., montreraient que le courant extracellulaire peut jouer le même rôle que certaines ondes lentes physiologiques. Cependant seuls les gradients physiologiques d'orientation verticale modulent clairement l'activité des neurones les plus couramment enregistrés (neurones pyramidaux à orientation axiale). Ce fait suggère que le mode d'action des courants physiologiques est très différent de celui des microstimulations par courant continu. Mais ce que nous avons dit du mode d'action vraisemblable de ces dernières pourrait permettre de rendre compte de cette différence par la simple intervention de l'organisation histologique déterminant l'orientation des voies préférentielles suivies par ces divers courants. Une telle hypothèse serait assez proche de celle proposée par CREUTZFELDT et Coll., (1962) pour rendre compte des microstimulations électriques sur 25 % des cellules étudiées, ce qui correspondrait pour eux aux cellules non pyramidales.





## V - CONCLUSIONS ET RESUME.

Les points intéressants qui émergent de ce travail ont déjà été mis en évidence, nous nous bornerons à en faire un bref rappel.

- Le thème de ce travail n'est pas original puisqu'il a fait l'objet de nombreuses études, il est abordé pour la première fois à notre connaissance à l'aide de tests statistiques. Les méthodes et techniques utilisées ont été largement exposées et critiquées dans le but de définir strictement la validité des résultats obtenus.

- Nous avons confirmé les résultats antérieurs sur l'effet du courant. Un courant anodique augmente la fréquence cellulaire des PA, un courant cathodique la diminue. Les problèmes d'inversions de l'effet ont été discutés en fonction des données de la littérature. Nous avons exclu les hypothèses de différences morphologiques et physiologique, pour retenir un effet par processus lésionnel.

- L'étude du seuil d'excitabilité a été faite par une double approche. Il s'est révélé extrêmement bas, même s'il est vrai qu'il ne faut pas attacher trop de précision à ce résultat. En cela, nous n'avons pas pu confirmer certaines hypothèses qui lui confèraient un rôle privilégié dans l'initiation de processus pathologiques au niveau de certaines régions du cortex.

- La relation intensité-fréquence s'est révélée linéaire pour un bon nombre de cellules. Cependant nous avons apporté certaines restrictions à cette relation en fonction des résultats obtenus avec les cellules témoins. En définitive, nous avons admis que trois cellules seulement présentaient cette relation de manière indiscutable ce qui, semble-t-il, est montré pour la première fois dans ces conditions au niveau des cellules corticales.

- L'influence du temps sur l'efficacité des stimulations a été montrée à deux niveaux.





Nous avons pu mettre en évidence des phénomènes jamais décrits jusque là. Sur toutes ces cellules et particulièrement sur certaines, il existe une cumulation de la fréquence cellulaire qui se manifeste sur des périodes de dix à douze secondes. Ce phénomène a été discuté en termes de "trace ou rétention" de courte durée. Ces dernières cellules ne s'adaptaient pas au courant. Au contraire, nous avons montré que d'autres cellules s'adaptaient assez rapidement pour des périodes de temps assez longues. Enfin, quel que soit le mode d'évolution de la fréquence, il semble exister un temps limite ou apparaît un processus nouveau caractérisé par des échappements et rebonds successifs de l'activité cellulaire.

Le post effet des stimulations est toujours bref et n'est jamais proportionnel à l'intensité appliquée ; il dépendrait surtout du niveau d'activité de PA préexistante à la stimulation. L'étude du temps à long terme nous a permis de confirmer à l'échelon unitaire des phénomènes de "mémoire ou traces" décrits antérieurement par certains auteurs. Nous avons cependant montré qu'il n'était pas nécessaire d'appliquer de fortes intensités pendant de longues durées pour obtenir ce phénomène qui représente un des rares cas connu de trace d'assez longue durée (plusieurs minutes) au niveau unitaire.

- Nos résultats ne permettent pas de trancher sur le fond le problème complexe du ou des modes d'action du courant. Nous avons cependant discuté un certain nombre d'hypothèses. Nous avons admis qu'il n'était pas nécessaire de postuler une proximité ou localisation privilégiées de l'électrode pour obtenir une action efficace des stimulations. D'autres actions susceptibles de retentir sur l'activité cellulaire, lésion directe de la membrane, effet de proximité, modifications ioniques des espaces extracellulaires ont été postulées pour rendre compte de certains effets observés.

- Enfin, une tentative de corrélation a été faite, à la lumière des concepts actuels, pour savoir si les courants imposés avaient une action analogue aux gradients de potentiels physiologiques. Nous avons admis que le "steady potential" ne pouvait jouer un rôle, du fait même de l'adaptation cellulaire au courant.



Par contre il semble que les variations lentes de potentiel puissent jouer un rôle important dans certains mécanismes de synchronisation de l'activité cellulaire.

Ceci surtout en raison du seuil très bas de l'excitabilité cellulaire que nous avons noté.



## B I B L I O G R A P H I E

- J.T. ALEXANDER - W.L. NASTUK : An instrument for the production of micro-electrodes used in the electrophysiological studies.  
Rev. Sci. Instruments (1953), 24 : 528-531.
- T. ARAKI - T. OTANI : Response of single motoneurons to direct stimulation in toad's spinal cord.  
J. Neurophysiol. (1955), 18 : 472-485.
- A. BAK : A unity gain cathode follower.  
E.E.G. Clin. Neurophysiol. (1958), 10 : 745-748.
- D.H. BARRON - B.H.C. MATTHEWS : The interpretation of potential changes in the spinal cord.  
J. Physiol. London (1938), 92 : 276-321.
- H.R. BERESFORD - J.B. POSNER - F. PLUM : Changes in brain lactate during induced cerebral seizures.  
Arch. Neurol. (1969), 20 : 243-248.
- L.J. BINDMAN - O.C. LIPPOLD - J.W.T. REDFERN : The action of brief polarizing current on the cerebral cortex of the rat during current flow and in the production of long-lasting after-effects.  
J. Physiol. (1964), 172 : 369-382.
- G.H. BISHOP - J.L. O'LEARY : The effects of polarizing currents on cell potentials and their significance in the interpretation of central nervous system activity.  
E.E.G. Clin. Neurophysiol. (1950), 2 : 401-416.



- J. BOISSEAU - J. BOISTEL : Contrôle au microscope électronique de microélectrodes de verre de différentes longueurs vides ou remplies de solutions conductrices.  
J. Physiol. Paris (1965), 57 : 529-535.
- V. BONNET : Etude de l'effet des modifications de la polarisation membranaire neuronique sur les réactions réflexes de la grenouille spinale. Polarisation par courant constant, déductions relatives au déterminisme de la post-décharge.  
Arch. Int. Physiol. et Biochim. (1956), 64 : 141-167.
- F. BREMER : Cerebral and cerebellar potentials.  
Physiol. Rev. (1958), 38 : 357-388.
- F.M. BROOKHART - BLACHLY : Cerebellar unit responses to DC-polarization.  
Am. J. Physiol. (1952), 171 : 711.
- TH. H. BULLOCK : Representation of information in neurons and sites for molecular participation.  
Proceedings Nation. Acad. Sciences (1968), 60 : 1058-1067.
- B.D. BURNS - G.C. SALMOIRAGHI : Repetitive firing of respiratory neurons during their burst activity.  
J. Neurophysiol. (1960), 23 : 27-46.
- D. BURNS - G. MANDL : A simple method for recording action potentials from single cells in the cerebral cortex of the cat.  
J. Physiol. (1968), 198 : 57-58.
- J. CALVET - J. SCHERRER : Relation des décharges unitaires avec les ondes cérébrales spontanées et la polarisation corticale.  
Compt. Rend. Acad. Sci. (1961), 252 : 2297-2299.





- J. CALVET - M.C. CALVET - J. SCHERRER : Etude stratigraphique corticale de l'activité E.E.G. spontanée.  
E.E.G. Clin. Neurophysiol. (1964), 17 : 109-125.
- J. CALVET - M.C. CALVET : Etude quantitative et organisation en fonction de la vigilance de l'activité unitaire des diverses régions du cortex cérébral.  
Brain Research (1968), 10 : 183-199.
- H. CASPERS - H. SCHULZE : Die Veränderungen der corticalen Gleichspannung während der natürlichen Schlaf-Wach-Perioden beim freibeweglichen Tier.  
Arch. ges. Physiol. Pflüger's (1959), 270 : 103-120.
- N. CHALAZONITIS - H. TAKEUCHI - A. ARVANITAKI : Accommodation des neurones à ondes lentes au courant constant.  
C.R. Soc. Biol. (1967), 161 : 2224- 2230.
- O.D. CREUTZFELDT - G. FROMM - H. KAPP : Influence of transcortical D-C currents on cortical neural activity.  
Experimental Neurology (1962), 5 : 436-452.
- O.D. CREUTZFELDT : Propriétés biophysiques des cellules nerveuses de l'écorce cérébrale.  
Actualités Neurophysiol. 6ème série, (1966 a), 100-119.
- O.D. CREUTZFELDT - H.D. LUX - S. WATANABE : Electrophysiology of cortical nerve cells, in the Thalamus, PURPURA D.P. and YAHR ed.  
New-York Colombia Univ. Press (1966 b), pages 209 à 234.
- D.R. CURTIS - K. KOISUMI : Chemical transmitter substances in brain stem of cat.  
J. Neurophysiol. (1961), 24 : 80-90.



- H.H. DUBNER - R.W. GERARD : Factors controlling brain potentials in the cat.  
J. Neurophysiol. (1939), 2 : 142-152.
- J.C. ECCLES : The physiology of synapses.  
Springer Verlag Berlin (1964), 37-137.
- R. ELUL : Dipoles of spontaneous activity in the cerebral cortex.  
Experiment. Neurol. (1962), 6 : 285-299.
- C. EULER - J.D. GREEN : Activity in single hippocampal pyramids.  
Acta Physiol. Scand. (1960), 48 : 95-109.
- V.E. EVARTS - E. BENTAL - B. BIHARI - P.R. HUTTENLOCHER : Spontaneous discharge of single neurons during sleep and waking.  
Sciences (1961), 135 : 726-728.
- V.E. EVARTS : Effects of sleep and waking on spontaneous and evoked discharge of single units in visual cortex.  
Federation, Proceedings (1964), 19 : 828-837.
- G. FRITSCH - E. HITZIG : Uber die elektrische Erregbarkeit des Grosshirns.  
Arch. Anat. Physiol. Wiss. Med. (1870), 37 : 300-332.
- G. FROMM - H.W. BOND : Slow changes in the electrocorticogram and the activity of corticals neurons.  
E.E.G. Clin. Neurophysiol. (1964), 17 : 520-523.
- K. FRANK - G.F. FUORTES : Stimulation of spinal motoneurones with intracellular electrodes.  
J. Physiol. (1956), 134 : 451-470.
- K. FRANK - G.F. FUORTES : Accommodation of spinal motoneurones of cats.  
Arch. Ital. Biol. (1960), 98 : 165-170.



- M.G. FUORTES : Electric activity of cells in the eye of LIMULUS.  
Am. J. Ophtal. (1958), 46 : 210.
- M.G. FUORTES - MANTEGAZZINI : Interpretation of the firing of nerve cells.  
J. Gen. Physiol. (1962), 6 : 1163-1179.
- L.A. GEDDES - L.E. BAKER - A.G. MOORE : Optimul electrolytic chloriding of silver electrodes.  
Med. & Biol. Enging. (1969), 7 : 49-56.
- R.W. GERARD - B. LIBET : The control of normal and "convulsive" brain potentials.  
Am. J. Psychiat. (1940), 96 : 1125-1152.
- P. GERIN - J. COURJON : Modifications de l'activité unitaire des neurones corticaux sous l'influence d'un passage de courant par microélectrodes d'enregistrement. Relation avec les processus épileptiques.  
Rev. Neurol. (1962), 106 : 203-213.
- A.L.F. GORMAN : Surface versus intracellular polarization of cortical cells.  
in Nature (1967), 216 : pages 288 à 289.
- B. GRAFSTEIN : Mechanism of spreading cortical depression.  
J. Physiol. (1956), 2 : 154-171.
- R. GRANIT - D. KERNELL - G.K. SCHORTESS : Quantitative aspects of repetitive firing of mammalian motoneurones, caused by injected currents.  
J. Physiol. (1963 a), 168 : 911-931.
- R. GRANIT - D. KERNELL - G.K. SCHORTESS : The behaviour of mammalian motoneurones during log-lasting orthodromic, antidromic and trans-membrane stimulation.  
J. Physiol. (1963 b), 169 : 743-754.



- R. GRANIT - D. KERNELL - R.S. SMITH : Delayed depolarization and repetitive response to intracellular stimulation of mammalian motoneurons.  
J. Physiol. (1963 c), 168 : 890-910.
- R. GRANIT - D. KERNELL - Y. LAMARRE : Synaptic stimulation superimposed on motoneurons firing in the "secondary range" to injected current.  
J. Physiol. (1966 a), 187 : 401-415.
- R. GRANIT - D. KERNELL - Y. LAMARRE : Algebraical summation in synaptic activation of motoneurons firing within the "primary range" to injected current.  
J. Physiol. (1966 b), 187 : 379-399.
- R. GRANIT : Maintained firing of motoneurons during transmembrane stimulation.  
Progress in Brain Research (1964), 12 : 36-41.
- J.D. GREEN - D.S. MAXWELL - W.J. SCHINDLER - C. STUMPF. : Rabbit E.E.G. "θ" rhythm ; its anatomical source and relation to activity in single neuron.  
J. Physiol. (1960), 23 : 403-420.
- R.G. GROSSMAN - T. HAMPTON : Depolarization of cortical glial cells during electrocortical activity.  
Brain Research (1968), 11 : 316-324.
- H. GRUNDFEST : Synaptic and ephatic transmission.  
Handbook Physiology (1959), section I, 1 : 148 à 197.
- J.A. HOBSON - R.W. CARLEY : Cortical unit activity in sleep and waking.  
E.E.G. Clin. Neurophysiol. (1971), 30 : 97-112.





- J. HOLUBAR - B. HANKE - V. MALIK : Intracellular recording from cortical pyramid and small interneurons as identified by subsequent staining with the recording microelectrode.  
Experimental Neurology (1967), 19 : 257-264.
- K. KRNJEVIC - J. W. PHILLIS : Ionophoretic studies of neurons in the mammalian cerebral cortex.  
J. Physiol. (1963), 165 : 275-303.
- Y.W. LEE : Statistical theory of communication.  
WILEY J. and Sons Inc., New-York (1967), Pages 1 à 104.
- C.L. LI - G. SALMOIRAGHI : Cortical steady potentials changes : extracellular microelectrode investigations.  
Nature (1963), 198 : 858-859.
- B. LIBET - R.W. GERARD : Steady potential fields and neurone activity.  
J. Neurophysiol. (1941), 4 : 438-455.
- B. LIBET - T.B. KAHN : Steady potentials and neurone activity in mammals.  
Federation Proceedings (1947), 6 : 152.
- W.H. MARSHALL - C.F. ESSIG : Relation of air exposure of cortex to spreading depression of LEO.  
J. Neurophysiol. (1951 a), 4 : 265-273.
- W.H. MARSHALL - C.F. ESSIG - S.J. DUBROFF : Relation of temperature of cerebral cortex to spreading depression of LEO.  
J. Neurophysiol. (1951 b), 2 : 153-166.
- W.H. MARSHALL : Spreading cortical depression of LEO.  
Physiol. Rev. (1959) 39 : 239-279.



CH. MARX : Le message nerveux.

in Kayser, physiologie, Flammarion Paris (1963), 2 : pages  
156 à 194.

A. MOLLIKA - G. MORUZZI - R. NAQUET : Décharges réticulaires induites par la  
polarisation du cervelet ; leurs rapports avec le tonus pos-  
tural et la réaction d'éveil.

E.E.G. Clin. Neurophysiol. (1953), 5 : 571-584.

A. MOLLIKA - G.F. ROSSI : Attività de singole unità del sistema pyramidale  
durante la polarizzazione della zona corticale motrice.  
Arch. fisiol. (1954), 54 : 219-230.

V.B. MOUNCASTLE - G.F. POGGIO - G. WERNER : The relation of thalamic cell  
response to peripheral stimuli varied over an intensive con-  
tinuum.

J. Neurophysiol. (1963), 27 : 807-834.

F. MORRELL : Effects of anodal polarization on the firing pattern of single  
cortical cells.

Ann. N.Y. Acad. Sci. (1961), 92 : 860-876.

J.O'LEARY - S. GOLDRING : Changes associated with forebrain excitation proces-  
sus : D-C potentials of the cerebral cortex.

Handbook Physiology, Neurophysiol. 1, (1959), section I  
pages 315 à 328.

J. O'LEARY et S. GOLDRING : D-C potentials of the brain.

Physiol. Rev. (1964), 44 : 91-125.

R.K. ORKAND - J.G. NICHOLLS - S.W. KUFFLER : The effect of nerves impulses  
on the membrane potentials of glial cells in the central  
nervous system of amphibia.

J. Neurophysiol. (1966), 29 : 788-806.



- R.K. ORKAND : Neuroglial-neuronal interactions.  
in Basic mechanisms of the Epilepsies H. JASPER, A.A. WARD,  
A. POPE ed. J & A CHURCHILL London (1969), pages 737 à 753.
- D.A. POLLEN - P.G. SIE : Analysis of thalamic induced wawa and spike by modifications in cortical excitability.  
E.E.G. Clin. Neurophysiol. (1964), 17 : 154-163.
- D.A. POLLEN : Cité in CREUTZFELDT Electrophysiology of cortical nerve cells.
- D. PURPURA - J. McMURTRY : Intracellular activities and evoked potentials changes during polarization of motor cortex.  
J. Neurophysiol. (1965), 28 : 166-185.
- F. ROSENTHAL : Relationships between positive-negative extracellular potentials and intracellular potentials in pyramidal tract neurons.  
E.E.G. Clin. Neurophysiol. (1971), 30 : 38-44.
- V.S. RUSINOV : An electrophysiological analysis of the connecting function in the cerebral cortex in the presence of a dominant region area.  
Abstr. Comm. XIX Internat. Congr. Montreal (1953), pages 719 à 720.
- J. SCHERRER - O. BENOIT : Les niveaux de vigilance physiologique : les états de veille et de sommeil.  
Ann. Biol. Clin. (1966), 24 : 107-124.
- D. SMITH - T.B. DUCKER - L.G. KEMPE : Experimental in vivo microcirculatory dynamics in brain trauma.  
J. of Neurosurg. (1969), 6 : 664-672.
- R. SPEHLMANN - H. KAPP : Direct extracellular polarization of cortical neurons with multibarreled microelectrodes.  
Arch. Ital. Biol. (1964), 1 : 74-94.



- C.N. STEFANIS : Relations of the spindle waves and the evoked cortical waves to the intracellular potentials in pyramidal motor neurons.  
E.E.G. Clin. Neurophysiol. (1964), 15 : 1054.
- S.S. STEVENS : The psychophysics of sensory function.  
in the, Sensory Communication W.A. ROSENBLITH ed.  
The M.I.T. Press Cambridge (1961), page 1 à 33.
- S.D. STONEY - W.D. THOMPSON - H. ASANUMA : Excitation of pyramidal tracts cells by intracortical microstimulation : effective extent of stimulating current.  
J. Neurophysiol. (1968), 31 : 659-669.
- F. STRUMWASSER - S. ROSENTHAL : Prolonged and patterned direct extracellular stimulation of single neurons.  
Am. J. Physiol. (1960), 198 : 405-413.
- R.E. TALBOTT - A.L. TOWE - T.T. KENNEDY : Physiological and histological classification of cerebellar neurons in Chloralose-anesthetized cats.  
Experimental Neurology (1967), 19 : 46-64.
- I. TASAKI - E.H. POLLEY - F. ORREGO : Action potentials from individual elements in cat geniculate and striate cortex.  
J. Neurophysiol. (1954), 17 : 454-473.
- C.A. TERZUOLO - T.H. BULLOCK : Measurement of imposed voltage gradient adequate to modulate neuronal firing.  
Proc. Natl. Acad. Sci. U.S. (1956), 42 : 687-694.
- E.F. VASTOLA : An electrical sign of facilitation accompanying repetitive presynaptic activity.  
J. Neurophysiol. (1959), 22 : 624-632.





- C.N. STEFANIS : Relations of the spindle waves and the evoked cortical waves to the intracellular potentials in pyramidal motor neurons.  
E.E.G. Clin. Neurophysiol. (1964), 15 : 1054.
- S.S. STEVENS : The psychophysics of sensory function.  
in the, Sensory Communication W.A. ROSENBLITH ed.  
The M.I.T. Press Cambridge (1961), page 1 à 33.
- S.D. STONEY - W.D. THOMPSON - H. ASANUMA : Excitation of pyramidal tracts cells by intracortical microstimulation : effective extent of stimulating current.  
J. Neurophysiol. (1968), 31 : 659-669.
- F. STRUMWASSER - S. ROSENTHAL : Prolonged and patterned direct extracellular stimulation of single neurons.  
Am. J. Physiol. (1960), 198 : 405-413.
- R.E. TALBOTT - A.L. TOWE - T.T. KENNEDY : Physiological and histological classification of cerebellar neurons in Chloralose-anesthetized cats.  
Experimental Neurology (1967), 19 : 46-64.
- I. TASAKI - E.H. POLLEY - F. ORREGO : Action potentials from individual elements in cat geniculate and striate cortex.  
J. Neurophysiol. (1954), 17 : 454-473.
- C.A. TERZUOLO - T.H. BULLOCK : Measurement of imposed voltage gradient adequate to modulate neuronal firing.  
Proc. Natl. Acad. Sci. U.S. (1956), 42 : 687-694.
- E.F. VASTOLA : An electrical sign of facilitation accompanying repetitive presynaptic activity.  
J. Neurophysiol. (1959), 22 : 624-632.



L.L. VORONIN - A. FESSARD<sup>D</sup> : Analyse intracellulaire des effets consécutifs  
à la micropolarisation des neurones corticaux.  
C.R. Acad. Sci. Paris (1969) 268 : 1430-1433.



A N N E X E I

TABLEAUX DE RESULTATS DC<sup>+</sup>



| N°<br>des<br>cell. | Durée<br>en<br>mn | EFFECTIFS |       |       | NORMALITE           |   |           |   |            |       |
|--------------------|-------------------|-----------|-------|-------|---------------------|---|-----------|---|------------|-------|
|                    |                   | Col.      | Ligne | Série | Données non transf. |   |           |   | Transf.    |       |
|                    |                   |           |       |       | Histo.              |   | Dte Henri |   | $\sqrt{x}$ | Log x |
|                    |                   |           |       |       | 0                   | + | 0         | + |            |       |
| 308                | 12                | 5         | 3     | 2     | ?                   |   |           | + | 0          | 0     |
| 312                | 26                | 0         | 0     | 0     |                     |   |           |   |            |       |
| 313                | 95                | 5         | 4     | 6     | ?                   |   |           | + | 0          | 0     |
| 315                | 16                | 0         | 0     | 0     |                     |   |           |   |            |       |
| 319                | 18                | 5         | 4     | 2     | ?                   |   |           | + | 0          | 0     |
| 327                | 15                | 0         | 0     | 0     |                     |   |           |   |            |       |
| 339                | 17                | 5         | 1     | 5     | ?                   |   |           | + | 0          | 0     |
| 353                | 18                | 5         | 3     | 4     | ?                   |   |           | + | 0          | 0     |
| 360                | 16                | 0         | 0     | 0     |                     |   |           |   |            |       |
| 364 <sub>1</sub>   | 70                | 0         | 0     | 0     |                     |   |           |   |            |       |
| 364 <sub>2</sub>   |                   |           |       |       |                     |   |           |   |            |       |
| 364 <sub>3</sub>   |                   |           |       |       |                     |   |           |   |            |       |
| 375                | 20                | 0         | 0     | 0     |                     |   |           |   |            |       |
| 376                | 24                | 0         | 0     | 0     |                     |   |           |   |            |       |
| 379 <sub>1</sub>   | 65                | 0         | 0     | 0     |                     |   |           |   |            |       |
| 379 <sub>2</sub>   |                   |           |       |       |                     |   |           |   |            |       |
| 379 <sub>3</sub>   |                   |           |       |       |                     |   |           |   |            |       |
| 381                | 16                | 5         | 3     | 3     | ?                   |   |           | + | 0          | 0     |
| 382                | 20                | 5         | 4     | 5     | ?                   |   |           | + | 0          | 0     |





Tableau A.2.

| N°<br>des<br>cell. | TRAITEMENT F<br>α |                |             |             |             |   |              |   |             |              |             |   | Déli-<br>mita-<br>tion |   |
|--------------------|-------------------|----------------|-------------|-------------|-------------|---|--------------|---|-------------|--------------|-------------|---|------------------------|---|
|                    | Effets            |                |             |             |             |   | Interactions |   |             |              |             |   |                        |   |
|                    | T                 |                | t           |             | i           |   | T x t        |   | T x i       |              | t x i       |   |                        |   |
|                    | 0                 | +              | 0           | +           | 0           | + | 0            | + | 0           | +            | 0           | + | 0                      | + |
| 308                |                   | 9,69<br>0,025  | 0,45<br>0,1 |             | 3,15<br>0,1 |   | 1,15<br>0,1  |   |             | 4,11<br>0,05 | 1,17<br>0,1 |   | 0                      |   |
| 312                | 0                 |                | 0           |             | 0           |   | 0            |   | 0           |              | 0           |   | 0                      |   |
| 313                | 1,52<br>0,1       |                | 0,65<br>0,1 |             | 0,89<br>0,1 |   | 1,29<br>0,1  |   | 1,44<br>0,1 |              | 1,23<br>0,1 |   | 0                      |   |
| 315                | 0                 |                | 0           |             | 0           |   | 0            |   | 0           |              | 0           |   | 0                      |   |
| 319                | 0,33<br>0,1       |                | 0,40<br>0,1 |             | 0,16<br>0,1 |   | 0,6<br>0,1   |   | 0,7<br>0,1  |              | 1,7<br>0,1  |   | 0                      |   |
| 327                | 0                 |                | 0           |             | 0           |   | 0            |   | 0           |              | 0           |   | 0                      |   |
| 339                | 0,69<br>0,1       |                |             | 3,8<br>0,05 |             |   | 0            |   | 0           |              | 0           |   |                        |   |
| 353                | 1,14<br>0,1       |                | 1,35<br>0,1 |             | 0,93<br>0,1 |   | 2,07<br>0,1  |   | 0,85<br>0,1 |              | 0,57<br>0,1 |   |                        | + |
| 360                | 0                 |                | 0           |             | 0           |   | 0            |   | 0           |              | 0           |   | 0                      |   |
| 364 <sub>1</sub>   | 0                 |                | 0           |             | 0           |   | 0            |   | 0           |              | 0           |   | 0                      |   |
| 364 <sub>2</sub>   | 0                 |                | 0           |             | 0           |   | 0            |   | 0           |              | 0           |   |                        |   |
| 364 <sub>3</sub>   | 0                 |                | 0           |             | 0           |   | 0            |   | 0           |              | 0           |   |                        |   |
| 375                | 0                 |                | 0           |             | 0           |   | 0            |   | 0           |              | 0           |   | 0                      |   |
| 376                | 0                 |                | 0           |             | 0           |   | 0            |   | 0           |              | 0           |   | 0                      |   |
| 379 <sub>1</sub>   | 0                 |                | 0           |             | 0           |   | 0            |   | 0           |              | 0           |   |                        |   |
| 379 <sub>2</sub>   | 0                 |                | 0           |             | 0           |   | 0            |   | 0           |              | 0           |   | 0                      |   |
| 379 <sub>3</sub>   | 0                 |                | 0           |             | 0           |   | 0            |   | 0           |              | 0           |   |                        |   |
| 381                |                   | 5,1<br>0,025   | 2,6<br>0,1  |             | 2,3<br>0,1  |   | 0,3<br>0,1   |   | 0,2<br>0,1  |              | 1,4<br>0,1  |   | 0                      |   |
| 382                |                   | 14,11<br>0,001 | 1,19<br>0,1 |             | 0,7<br>0,1  |   | 0,7<br>0,1   |   | 0,5<br>0,1  | 2,7<br>0,01  |             |   |                        |   |



Tableau A.3.

[illegible]



Tableau A.4.

| N°<br>des<br>cell. | PARAMETRES |      |           |       | Partic. |
|--------------------|------------|------|-----------|-------|---------|
|                    | $S_x^2$    | CV   | $\bar{x}$ | Seuil |         |
| 308                | 10,03      | 0,43 | 7,4       | /     |         |
| 312                | 0          | 0    | 0         |       |         |
| 313                | 14,66      | 1,53 | 2,5       | /     |         |
| 315                | 0          | 0    | 0         |       |         |
| 319                | 43,45      | 1,43 | 4,6       | /     |         |
| 327                | 0          | 0    | 0         |       |         |
| 339                | 4,52       | 0,63 | 3,7       | /     | *       |
| 353                | 1,48       | 1,29 | 0,95      | /     |         |
| 360                | 0          |      |           |       |         |
| 364 <sub>1</sub>   | 0          |      |           |       | \$      |
| 364 <sub>2</sub>   | 0          |      |           |       |         |
| 364 <sub>3</sub>   | 0          |      |           |       |         |
| 375                | 0          |      |           |       |         |
| 376                | 0          |      |           |       |         |
| 379 <sub>1</sub>   | 0          |      |           |       | \$      |
| 379 <sub>2</sub>   | 0          |      |           |       |         |
| 379 <sub>3</sub>   | 0          |      |           |       |         |
| 381                | 3,5        | 0,76 | 2,47      | /     |         |
| 382                | 4,99       | 0,6  | 3,67      | /     |         |

Même intensité

Dissociée en  
3 groupesDissociée en  
3 groupes





| N°<br>des<br>cell. | EFFECTIFS |       |       | NORMALITE           |   |           |   |            |       |
|--------------------|-----------|-------|-------|---------------------|---|-----------|---|------------|-------|
|                    | Col.      | Ligne | Série | Données non transf. |   |           |   | Transf.    |       |
|                    |           |       |       | Histo.              |   | Jte Henri |   | $\sqrt{x}$ | Log x |
|                    |           |       |       | 0                   | + | 0         | + |            |       |
| 308                | 10        | 3     | 2     |                     | + |           | + | -          |       |
| 312                | 8         | 4     | 3     | ?                   |   |           | + | 0          | 0     |
| 313                | 5         | 4     | 6     | ?                   |   |           | + | 0          | 0     |
| 315                | 5         | 3     | 3     |                     | + |           | + |            |       |
| 319                | 10        | 4     | 2     | ?                   |   |           | + | 0          | 0     |
| 327                | 10        | 3     | 2     | ?                   |   |           | + | 0          | 0     |
| 339                | 5         | 1     | 5     | ?                   |   |           | + | 0          | 0     |
| 353                | 5         | 3     | 3     | ?                   |   |           | + | 0          | 0     |
| 360                | 5         | 4     | 3     | ?                   |   |           | + | 0          | 0     |
| 364 <sub>1</sub>   | 5         | 3     | 5     | ?                   |   |           | + | 0          | 0     |
| 364 <sub>2</sub>   | 5         | 3     | 4     | ?                   |   |           | + | 0          | 0     |
| 364 <sub>3</sub>   | 5         | 3     | 4     |                     | + |           | + |            |       |
| 375                | 5         | 3     | 4     | ?                   |   |           | + | 0          | 0     |
| 376                | 5         | 3     | 5     | ?                   |   |           | + | 0          | 0     |
| 379 <sub>1</sub>   | 5         | 4     | 5     | ?                   |   |           | + | 0          | 0     |
| 379 <sub>2</sub>   | 5         | 5     | 3     | ?                   |   |           | + | 0          | 0     |
| 379 <sub>3</sub>   | 5         | 5     | 3     |                     | + |           | + |            |       |
| 381                | 5         | 3     | 3     | ?                   |   |           | + | 0          | 0     |
| 382                | 5         | 4     | 5     |                     | + |           | + | 0          | 0     |





Tableau A.6

| N°<br>des<br>cell. | TRAITEMENT F<br>α |                |              |              |             |                |              |               |             |                |             |             | Déli-<br>mita-<br>tion |   |
|--------------------|-------------------|----------------|--------------|--------------|-------------|----------------|--------------|---------------|-------------|----------------|-------------|-------------|------------------------|---|
|                    | Effets            |                |              |              |             |                | Interactions |               |             |                |             |             |                        |   |
|                    | T                 |                | t            |              | i           |                | T x t        |               | T x i       |                | t x i       |             |                        |   |
|                    | 0                 | +              | 0            | +            | 0           | +              | 0            | +             | 0           | +              | 0           | +           | 0                      | + |
| 308                |                   | 44,08<br>0,001 | 1,74<br>0,01 |              | 3,3<br>0,07 |                | 0,5<br>0,1   |               | 2,7<br>0,1  |                | 1,6<br>0,1  |             | 0                      |   |
| 312                |                   | 29,51<br>0,001 | 1,24<br>0,1  |              |             | 6,98<br>0,005  |              | 3,11<br>0,005 |             | 3,3<br>0,001   | 0,75<br>0,1 |             | 0                      |   |
| 313                |                   | 2,4<br>0,05    |              | 6,1<br>0,025 |             | 8,4<br>0,001   | 1,1<br>0,1   |               | 1,3<br>0,1  |                | 2,06<br>0,1 |             | 0                      |   |
| 315                | 1,2<br>0,1        |                |              | 3,7<br>0,025 | 0,8<br>0,1  |                | 0,57<br>0,1  |               | 2,2<br>0,1  |                | 0,3<br>0,1  |             | 0                      |   |
| 319                | 0,18<br>0,1       |                |              | 3,8<br>0,01  |             | 3,4<br>0,01    | 1,2<br>0,1   |               | 0,4<br>0,1  |                |             | 2,8<br>0,05 | 0                      |   |
| 327                | 0,2<br>0,1        |                |              | 3,9<br>0,05  |             | 43,1<br>0,001  | 1<br>0,1     |               |             | 10,01<br>0,001 | 1,6<br>0,1  |             | 0                      |   |
| 339                |                   | 5,3<br>0,01    | 0,5<br>0,1   |              |             |                | 0            |               | 0           |                | 0           |             | 0                      |   |
| 353                |                   | 4,26<br>0,05   | 0,6<br>0,1   |              |             | 58,3<br>0,001  | 0,7<br>0,1   |               | 3,3<br>0,1  |                | 0,6<br>0,1  |             | 0                      |   |
| 360                | 2,9<br>0,1        |                | 0,2<br>0,1   |              |             | 12,5<br>0,001  | 1,01<br>0,1  |               | 0,64<br>0,1 |                | 1,35<br>0,1 |             | 0                      |   |
| 364 <sub>1</sub>   |                   | 6,2<br>0,001   | 1,3<br>0,1   |              |             | 12,5<br>0,001  | 0,8<br>0,1   |               | 0,87<br>0,1 |                | 1,33<br>0,1 |             | 0                      |   |
| 364 <sub>2</sub>   |                   | 3,3<br>0,05    | 0,8<br>0,1   |              |             | 27,11<br>0,001 | 1,2<br>0,1   |               | 1,5<br>0,1  |                | 0,65<br>0,1 |             | 0                      |   |
| 364 <sub>3</sub>   | 0,4<br>0,1        |                |              | 3,16<br>0,05 |             | 38,61<br>0,001 | 0,9<br>0,1   |               | 1,22<br>0,1 |                | 1,37<br>0,1 |             | 0                      |   |
| 375                |                   | 7,7<br>0,01    | 2,9<br>0,1   |              |             | 24,9<br>0,001  | 1,18<br>0,1  |               |             | 6,83<br>0,001  | 1,35<br>0,1 |             | 0                      |   |
| 376                |                   | 11,3<br>0,001  |              | 3,8<br>0,05  |             | 28,1<br>0,001  | 1,08<br>0,1  |               |             | 3,19<br>0,05   | 1,16<br>0,1 |             | 0                      |   |
| 379 <sub>1</sub>   |                   | 18,3<br>0,001  |              | 6,7<br>0,001 |             | 46,1<br>0,001  | 0,59<br>0,1  |               |             | 4,6<br>0,005   | 1,12<br>0,1 |             | 0                      |   |
| 379 <sub>2</sub>   |                   | 11,5<br>0,001  |              | 3,3<br>0,025 |             | 45,5<br>0,001  | 0,9<br>0,1   |               |             | 3,97<br>0,01   | 0,87<br>0,1 |             | 0                      |   |
| 379 <sub>3</sub>   |                   | 4,6<br>0,01    |              | 6,2<br>0,001 |             | 49,3<br>0,001  | 1,06<br>0,1  |               | 1,31<br>0,1 |                | 1,05<br>0,1 |             | 0                      |   |
| 381                |                   | 13,6<br>0,001  | 0,86<br>0,1  |              | 0,03<br>0,1 |                |              | 2,17<br>0,001 |             | 27,4<br>0,001  |             | 4,3<br>0,01 | 0                      |   |
| 382                |                   | 3,8<br>0,01    | 0,9<br>0,1   |              |             | 13,28<br>0,001 | 2,1<br>0,1   |               |             | 5,71<br>0,01   | 0,52<br>0,1 |             | 0                      |   |



Tableau A.7

| N°<br>des<br>cell. | REGRESSIONS LINEAIRES $\hat{\frac{b}{\alpha}}$ |               |               |   |               |   | REGRESSIONS QUADRATIQUES $\hat{\frac{b}{\alpha}}$ |               |   |               |              |             |
|--------------------|------------------------------------------------|---------------|---------------|---|---------------|---|---------------------------------------------------|---------------|---|---------------|--------------|-------------|
|                    | T                                              |               | t             |   | i             |   | T                                                 |               | t |               | i            |             |
|                    | +                                              | -             | +             | - | +             | - | +                                                 | -             | + | -             | +            | -           |
| 308                | 5,4<br>0,001                                   |               |               |   |               |   |                                                   |               |   |               | 0,6<br>0,05  |             |
| 312                |                                                | 4<br>0,001    |               |   | 1,98<br>0,001 |   | 1,44<br>0,001                                     |               |   |               |              |             |
| 313                |                                                |               | 2,65<br>0,001 |   | 3,41<br>0,001 |   |                                                   |               |   |               |              |             |
| 315                |                                                |               | 0,8<br>0,05   |   |               |   |                                                   |               |   | 0,92<br>0,01  |              |             |
| 319                |                                                |               | 2,8<br>0,001  |   | 2,7<br>0,001  |   |                                                   |               |   |               |              |             |
| 327                |                                                |               | 1,2<br>0,025  |   | 5<br>0,001    |   |                                                   |               |   | 1,01<br>0,05  |              |             |
| 339                | 2,36<br>0,001                                  |               |               |   |               |   |                                                   |               |   |               |              |             |
| 353                | 2,9<br>0,025                                   |               |               |   | 12,7<br>0,001 |   |                                                   |               |   |               | 2,7<br>0,001 |             |
| 360                |                                                |               |               |   | 1,79<br>0,001 |   |                                                   | 0,6<br>0,05   |   |               |              |             |
| 364 <sub>1</sub>   | 0,36<br>0,05                                   |               | 0,34<br>0,05  |   | 1,48<br>0,001 |   |                                                   |               |   |               |              |             |
| 364 <sub>2</sub>   | 0,7<br>0,05                                    |               |               |   | 3,55<br>0,001 |   |                                                   | 1,93<br>0,025 |   |               |              |             |
| 364 <sub>3</sub>   |                                                |               | 0,53<br>0,025 |   | 3,45<br>0,001 |   |                                                   |               |   | 0,46<br>0,025 |              |             |
| 375                | 1,87<br>0,001                                  |               |               |   | 3,88<br>0,001 |   |                                                   |               |   |               |              |             |
| 376                |                                                |               |               |   | 4,12<br>0,001 |   |                                                   | 1,05<br>0,001 |   | 1,05<br>0,001 |              | 0,8<br>0,05 |
| 379 <sub>1</sub>   | 1,03<br>0,05                                   |               | 1,88<br>0,001 |   | 5,32<br>0,001 |   |                                                   |               |   |               |              |             |
| 379 <sub>2</sub>   |                                                | 1,9<br>0,01   | 1,24<br>0,005 |   | 5,38<br>0,001 |   |                                                   | 1,61<br>0,001 |   |               |              |             |
| 379 <sub>3</sub>   | 1,02<br>0,005                                  |               |               |   | 2,7<br>0,001  |   |                                                   |               |   | 0,5<br>0,005  |              |             |
| 381                |                                                |               |               |   |               |   |                                                   | 1,25<br>0,001 |   |               |              |             |
| 382                |                                                | 0,48<br>0,005 |               |   | 0,8<br>0,001  |   |                                                   |               |   |               |              |             |



Tableau A.8

| N°<br>des<br>cell. | PARAMETRES |      |           |        | Partic. |
|--------------------|------------|------|-----------|--------|---------|
|                    | $S_E^2$    | CV   | $\bar{x}$ | Seuil  |         |
| 308                | 9,92       | 0,25 | 12,8      | -25,4  | *       |
| 312                | 24,07      | 0,52 | 9,44      | 1,14   |         |
| 313                | 72,58      | 0,75 | 11,43     | 5,2    |         |
| 315                | 13,22      | 0,58 | 6,3       | -22,5  | *       |
| 319                | 76,67      | 0,7  | 12,25     | 0,9    |         |
| 327                | 14,22      | 0,82 | 4,6       | 3,73   |         |
| 339                | 20,5       | 0,78 | 5,8       | /      |         |
| 353                | 47,65      | 0,48 | 14,42     | 2,01   |         |
| 360                | 9,42       | 1,09 | 2,8       | 2,3    |         |
| 364 <sub>1</sub>   | 4,48       | 0,78 | 2,71      | 0,86   |         |
| 364 <sub>2</sub>   | 9,57       | 0,48 | 6,37      | 6,03   |         |
| 364 <sub>3</sub>   | 6,19       | 0,28 | 8,9       | 6,98   |         |
| 375                | 12,17      | 0,53 | 6,6       | 1,48   |         |
| 376                | 16,87      | 0,6  | 6,8       | 2,85   |         |
| 379 <sub>1</sub>   | 27,01      | 0,64 | 8,16      | 9,83   |         |
| 379 <sub>2</sub>   | 24,70      | 0,45 | 11,03     | 4,75   |         |
| 379 <sub>3</sub>   | 5,61       | 0,29 | 8,2       | 0,26   |         |
| 381                | 5,51       | 0,51 | 4,65      | -41,58 | *       |
| 382                | 4,79       | 0,36 | 6,16      | 0,40   |         |

\* Seuil théorique  
aberrant





| N°<br>des<br>cell. | EFFECTIFS |       |       | NORMALITE           |   |           |   |            |       |
|--------------------|-----------|-------|-------|---------------------|---|-----------|---|------------|-------|
|                    | Col.      | Ligne | Série | Données non transf. |   |           |   | Transf.    |       |
|                    |           |       |       | Histo.              |   | Dte Henri |   | $\sqrt{x}$ | Log x |
|                    |           |       |       | 0                   | + | 0         | + |            |       |
| 308                | 5         | 3     | 2     |                     | + |           | + |            |       |
| 312                | 0         | 0     | 0     |                     |   |           |   |            |       |
| 313                | 5         | 4     | 6     | ?                   |   |           | + | 0          | 0     |
| 315                | 0         | 0     | 0     |                     |   |           |   |            |       |
| 319                | 5         | 4     | 2     | ?                   |   |           | + | 0          | 0     |
| 327                | 0         | 0     | 0     |                     |   |           |   |            |       |
| 339                | 5         | 1     | 5     | ?                   |   |           | + | 0          | 0     |
| 353                | 5         | 3     | 3     | ?                   |   |           | + | 0          | 0     |
| 360                | 0         | 0     | 0     |                     |   |           |   |            |       |
| 364 <sub>1</sub>   | 0         | 0     | 0     |                     |   |           |   |            |       |
| 364 <sub>2</sub>   | 0         | 0     | 0     |                     |   |           |   |            |       |
| 364 <sub>3</sub>   | 0         | 0     | 0     |                     |   |           |   |            |       |
| 375                | 0         | 0     | 0     |                     |   |           |   |            |       |
| 376                | 0         | 0     | 0     |                     |   |           |   |            |       |
| 379 <sub>1</sub>   | 0         | 0     | 0     |                     |   |           |   |            |       |
| 379 <sub>2</sub>   | 0         | 0     | 0     |                     |   |           |   |            |       |
| 379 <sub>3</sub>   | 0         | 0     | 0     |                     |   |           |   |            |       |
| 381                | 5         | 3     | 3     | ?                   |   |           | + | 0          | 0     |
| 382                | 5         | 4     | 5     | ?                   |   |           | + | 0          | 0     |





Tableau A.10

| N°<br>des<br>cell. | TRAITEMENT $F_{\alpha}$ |                |             |              |             |              |              |   |               |   |             |   |
|--------------------|-------------------------|----------------|-------------|--------------|-------------|--------------|--------------|---|---------------|---|-------------|---|
|                    | Effets                  |                |             |              |             |              | Interactions |   |               |   |             |   |
|                    | T                       |                | t           |              | i           |              | T x t        |   | T x i         |   | t x i       |   |
|                    | 0                       | +              | 0           | +            | 0           | +            | 0            | + | 0             | + | 0           | + |
| 308                | 4,8<br>0,07             |                |             | 5,9<br>0,025 |             | 14<br>0,001  | 0            |   | 0             |   | 0           |   |
| 312                | 0                       |                | 0           |              | 0           |              | 0            |   | 0             |   | 0           |   |
| 313                |                         | 3,38<br>0,01   |             | 2,98<br>0,05 | 0,85<br>0,1 |              | 1,18<br>0,1  |   | 0,77<br>0,1   |   | 0,99<br>0,1 |   |
| 315                | 0                       |                | 0           |              | 0           |              | 0            |   | 0             |   | 0           |   |
| 319                | 0,12<br>0,1             |                | 1,63<br>0,1 |              | 1,05<br>0,1 |              | 0,66<br>0,1  |   | 0,1<br>0,1    |   | 0,8<br>0,1  |   |
| 327                | 0                       |                | 0           |              | 0           |              | 0            |   | 0             |   | 0           |   |
| 339                | 0                       | 4,9<br>0,025   |             | 3,92<br>0,01 |             |              | 0            |   | 0             |   | 0           |   |
| 353                | 0,96<br>0,1             |                | 0,12<br>0,1 |              | 0,07<br>0,1 |              | 0,8<br>0,1   |   | 1,45<br>0,1   |   | 0,48<br>0,1 |   |
| 360                | 0                       |                | 0           |              | 0           |              | 0            |   | 0             |   | 0           |   |
| 364 <sub>1</sub>   | 0                       |                | 0           |              | 0           |              | 0            |   | 0             |   | 0           |   |
| 364 <sub>2</sub>   | 0                       |                | 0           |              | 0           |              | 0            |   | 0             |   | 0           |   |
| 364 <sub>3</sub>   | 0                       |                | 0           |              | 0           |              | 0            |   | 0             |   | 0           |   |
| 375                | 0                       |                | 0           |              | 0           |              | 0            |   | 0             |   | 0           |   |
| 376                | 0                       |                | 0           |              | 0           |              | 0            |   | 0             |   | 0           |   |
| 379 <sub>1</sub>   | 0                       |                | 0           |              | 0           |              | 0            |   | 0             |   | 0           |   |
| 379 <sub>2</sub>   | 0                       |                | 0           |              | 0           |              | 0            |   | 0             |   | 0           |   |
| 379 <sub>3</sub>   | 0                       |                | 0           |              | 0           |              | 0            |   | 0             |   | 0           |   |
| 381                |                         | 12,78<br>0,001 | 1,13<br>0,1 |              | 0,05<br>0,1 |              | 2,58<br>0,1  |   | 1,50<br>0,1   |   | 1,88<br>0,1 |   |
| 382                |                         | 5,72<br>0,005  | 0,4<br>0,1  |              |             | 3,16<br>0,01 | 1,25<br>0,1  |   | 3,57<br>0,001 |   | 0,59<br>0,1 |   |



Tableau A.11

[illegible]



Tableau A.12

| N°<br>des<br>cell. | PARAMETRES |      |           |       | Partic. |
|--------------------|------------|------|-----------|-------|---------|
|                    | $S_E^2$    | CV   | $\bar{x}$ | Seuil |         |
| 308                | 3,97       | 0,21 | 9,6       | /     |         |
| 312                | 0          |      |           |       |         |
| 313                | 17,07      | 1,5  | 2,7       | /     |         |
| 315                | 0          |      |           |       |         |
| 319                | 119        | 1,07 | 9,5       | /     |         |
| 327                | 0          |      |           |       |         |
| 339                | 1,79       | 0,64 | 2,10      | /     |         |
| 353                | 43,3       | 1,42 | 4,62      | /     |         |
| 360                | 0          |      |           |       |         |
| 364 <sub>1</sub>   | 0          |      |           |       |         |
| 364 <sub>2</sub>   | 0          |      |           |       |         |
| 364 <sub>3</sub>   | 0          |      |           |       |         |
| 375                | 0          |      |           |       |         |
| 376                | 0          |      |           |       |         |
| 379 <sub>1</sub>   | 0          |      |           |       |         |
| 379 <sub>2</sub>   | 0          |      |           |       |         |
| 379 <sub>3</sub>   | 0          |      |           |       |         |
| 381                | 3,41       | 0,69 | 2,69      | /     |         |
| 382                | 4,31       | 0,57 | 3,63      | /     |         |



A N N E X E    I I

T A B L E A U X   D E   R E S U L T A T S    D C<sup>-</sup>





| N°<br>des<br>cell. | Durée<br>en<br>mn | EFFECTIFS |       |       | NORMALITE           |   |           |   |            |       |
|--------------------|-------------------|-----------|-------|-------|---------------------|---|-----------|---|------------|-------|
|                    |                   | Col.      | Ligne | Série | Données non transf. |   |           |   | Transf.    |       |
|                    |                   |           |       |       | Histo.              |   | Dte Henri |   | $\sqrt{x}$ | Log x |
|                    |                   |           |       |       | 0                   | + | 0         | + |            |       |
| 306                | 12                | 5         | 4     | 3     |                     | + |           | + | 0          | 0     |
| 312                | 15                | 5         | 5     | 3     |                     | + |           | + | 0          | 0     |
| 317                | 17                | 5         | 4     | 3     |                     | + |           | + | 0          | 0     |
| 336                | 4                 | 5         | 1     | 3     |                     |   |           |   |            |       |
| 337                | 5                 | 5         | 1     | 3     |                     |   |           |   |            |       |
| 339                | 5                 | 5         | 1     | 3     |                     |   |           |   |            |       |
| 341                | 6                 | 5         | 1     | 5     |                     |   |           |   |            |       |



Tableau C.2

[illegible]



Tableau C.3

| N°<br>des<br>cell. | PARAMETRES |      |           | Partic. |
|--------------------|------------|------|-----------|---------|
|                    | $S_E^2$    | CV   | $\bar{x}$ |         |
| 306                | 33,82      | 0,23 | 25,65     |         |
| 312                | 37,79      | 0,29 | 21,2      |         |
| 317                | 16,77      | 0,44 | 9,4       |         |
| 336                | 161,47     | 0,29 | 43,6      | *       |
| 337                | 1,37       | 0,11 | 10,4      | *       |
| 339                | 15,63      | 0,35 | 11,2      | *       |
| 341                | 33,89      | 0,42 | 14,04     | *       |

\* Stimulation  
avec une inten-  
sité de même  
valeur.



| N°<br>des<br>cell. | EFFECTIFS |       |       | NORMALITE           |   |           |   |            |       |
|--------------------|-----------|-------|-------|---------------------|---|-----------|---|------------|-------|
|                    | Col.      | Ligne | Série | Données non transf. |   |           |   | Transf.    |       |
|                    |           |       |       | Histo.              |   | Dte Henri |   | $\sqrt{x}$ | Log x |
|                    |           |       |       | 0                   | + | 0         | + |            |       |
| 306                | 5         | 4     | 2     |                     | + |           | + | 0          | 0     |
| 312                | 6         | 5     | 2     | ?                   |   |           | + | 0          | 0     |
| 317                | 5         | 4     | 3     | ?                   |   |           | + | 0          | 0     |
| 336                | 11        | 1     | 3     |                     |   |           |   |            |       |
| 337                | 11        | 1     | 3     | 0                   |   |           |   |            |       |
| 339                | 5         | 1     | 3     |                     |   |           |   |            |       |
| 341                | 15        | 1     | 5     | ?                   |   |           | + |            |       |





Tableau C.5

| N°<br>des<br>cell. | TRAITEMENT F<br>α |               |             |               |             |               |              |   |       |             |          |   | Délimi-<br>tation |   |
|--------------------|-------------------|---------------|-------------|---------------|-------------|---------------|--------------|---|-------|-------------|----------|---|-------------------|---|
|                    | Effets            |               |             |               |             |               | Interactions |   |       |             |          |   |                   |   |
|                    | T                 |               | t           |               | i           |               | T x t        |   | T x i |             | t x i    |   |                   |   |
|                    | 0                 | +             | 0           | +             | 0           | +             | 0            | + | 0     | +           | 0        | + | 0                 | + |
| 306                |                   | 28,5<br>0,001 |             | 3,47<br>0,05  |             | 10,2<br>0,001 | 1,4<br>0,1   |   |       | 6,5<br>0,05 | 2<br>0,1 |   | 0                 |   |
| 312                | 0,15<br>0,1       |               |             | 4,84<br>0,005 |             | 13,6<br>0,001 | 0            |   |       | 2,6<br>0,1  | 0        |   | 0                 |   |
| 317                | 1,57<br>0,1       |               |             | 2,31<br>0,07  | 1,03<br>0,1 |               | 0            |   | 0     |             | 0        |   | 0                 |   |
| 336                | 1,01<br>0,1       |               | 2,2<br>0,1  |               |             |               | 0            |   | 0     |             | 0        |   | 0                 |   |
| 337                |                   | 3,75<br>0,05  | 1,8<br>0,1  |               |             |               | 0            |   | 0     |             | 0        |   | 0                 |   |
| 339                |                   | 6,26<br>0,025 | 1,57<br>0,1 |               |             |               | 0            |   | 0     |             | 0        |   | 0                 |   |
| 341                | 2,10<br>0,1       |               |             | 3,25<br>0,001 |             |               | 0            |   | 0     |             | 0        |   | 0                 |   |



Tableau C.6

[illegible]



Tableau C.7

| N°<br>des<br>cell. | PARAMETRES |      |           |       | Partic. |
|--------------------|------------|------|-----------|-------|---------|
|                    | $S_E^2$    | CV   | $\bar{x}$ | Seuil |         |
| 306                | 61         | 0,29 | 27        | 15,7  |         |
| 312                | 27,79      | 0,73 | 7,27      | 5,6   |         |
| 317                | 8,05       | 0,73 | 3,88      | 79,04 |         |
| 336                | 56,33      | 0,64 | 11,8      |       | *       |
| 337                | 3,13       | 0,28 | 6,33      |       | *       |
| 339                | 6,53       | 0,85 | 3         |       | *       |
| 341                | 13,21      | 0,81 | 4,49      |       | *       |

\* Même intensité.



## POSTIMULATION

Tableau C.8

| N°<br>des<br>cell. | EFFECTIFS |       |       | NORMALITE           |   |           |   |            |       |
|--------------------|-----------|-------|-------|---------------------|---|-----------|---|------------|-------|
|                    | Col.      | Ligne | Série | Données non transf. |   |           |   | Transf.    |       |
|                    |           |       |       | Histo.              |   | Dte Henri |   | $\sqrt{x}$ | Log x |
|                    |           |       |       | 0                   | + | 0         | + |            |       |
| 306                | 5         | 4     | 2     | ?                   |   |           | + | 0          | 0     |
| 312                | 5         | 5     | 2     |                     | + |           | + |            |       |
| 317                | 5         | 4     | 3     | ?                   |   |           | + | 0          | 0     |
| 336                | 5         | 1     | 3     |                     |   |           |   |            |       |
| 337                | 5         | 1     | 3     |                     |   |           |   |            |       |
| 339                | 5         | 1     | 3     |                     |   |           |   |            |       |
| 341                | 5         | 1     | 5     |                     |   |           |   |            |       |





Tableau C.9

[illegible]



Tableau C.10

| N°<br>des<br>cell. | PARAMETRES |      |           | Partic. |
|--------------------|------------|------|-----------|---------|
|                    | $S_E^2$    | CV   | $\bar{x}$ |         |
| 306                | 25,2       | 0,20 | 25,7      |         |
| 312                | 33,10      | 0,32 | 17,32     |         |
| 317                | 23,10      | 0,5  | 9,63      |         |
| 336                | 185,07     | 0,22 | 61,33     | *       |
| 337                | 16,52      | 0,49 | 8,33      | *       |
| 339                | 27,68      | 0,38 | 13,8      | *       |
| 341                | 25,74      | 0,33 | 15,4      | *       |



### A N N E X E    I I I

TABLEAUX   DES   RESULTATS   DES   CELLULES   NON   STIMULEES



| N°<br>des<br>cellules | Tps<br>de<br>vie<br>mn | EFFECTIFS |       |       | NORMALITE           |   |           |   |            |       |
|-----------------------|------------------------|-----------|-------|-------|---------------------|---|-----------|---|------------|-------|
|                       |                        | Col.      | Ligne | Série | Données non transf. |   |           |   | Transf.    |       |
|                       |                        |           |       |       | Histo.              |   | Dte Henri |   | $\sqrt{x}$ | Log x |
|                       |                        |           |       |       | 0                   | + | 0         | + |            |       |
| 961                   | 30                     | 5         | 4     | 5     |                     | + |           | + |            |       |
| 962                   | 30                     | 5         | 4     | 5     |                     | + |           | + |            |       |
| 963                   | 30                     | 5         | 4     | 5     |                     | + |           | + |            |       |
| 964                   | 30                     | 5         | 4     | 5     |                     | + |           | + |            |       |
| 1011                  | 30                     | 5         | 4     | 5     |                     | + |           | + |            |       |
| 1012                  | 30                     | 5         | 4     | 5     |                     | + |           | + |            |       |





Tableau D 2

| N°<br>des<br>cell. | TRAITEMENT $F_{\alpha}$ |               |             |   |   |              |              |   |       |               |       |   | Déli-<br>mi-<br>tation |   |
|--------------------|-------------------------|---------------|-------------|---|---|--------------|--------------|---|-------|---------------|-------|---|------------------------|---|
|                    | Effets                  |               |             |   |   |              | Interactions |   |       |               |       |   |                        |   |
|                    | T                       |               | t           |   | I |              | T x t        |   | T x I |               | t x I |   |                        |   |
|                    | 0                       | +             | 0           | + | 0 | +            | 0            | + | 0     | +             | 0     | + | 0                      | + |
| 961                |                         | 5,36<br>0,005 | 0,33<br>0,1 |   |   | 5,34<br>0,05 |              |   |       | 2,18<br>0,05  |       |   | 0                      |   |
| 962                |                         | 3,47<br>0,05  | 0,2<br>0,1  |   |   | 1,36<br>0,1  |              |   |       | 4,7<br>0,001  |       |   | 0                      |   |
| 963                |                         | 8,37<br>0,001 | 0,2<br>0,1  |   |   | 0,6<br>0,1   |              |   |       | 7,09<br>0,001 |       |   | 0                      |   |
| 964                |                         | 2,7<br>0,05   | 0,5<br>0,1  |   |   | 1,33<br>0,1  |              |   |       | 1,39<br>0,1   |       |   | 0                      |   |
| 1011               |                         | 11,3<br>0,001 | 0,9<br>0,1  |   |   | 4,2<br>0,01  |              |   |       | 6,58<br>0,001 |       |   | 0                      |   |
| 1012               |                         | 3,06<br>0,05  | 0,19<br>0,1 |   |   | 1,28<br>0,1  |              |   |       | 5,22<br>0,05  |       |   |                        |   |



Tableau D 3

| N°<br>des<br>cell. | REGRESSIONS LINEAIRES $\hat{\frac{b}{a}}$ |               |               |   |   |   | REGRESSIONS QUADRATIQUES $\hat{\frac{b}{a}}$ |               |   |   |   |   |
|--------------------|-------------------------------------------|---------------|---------------|---|---|---|----------------------------------------------|---------------|---|---|---|---|
|                    | T                                         |               |               | t |   |   | T                                            |               |   | t |   |   |
|                    | 0                                         | +             | -             | 0 | + | - | 0                                            | +             | - | 0 | + | - |
| 961                |                                           |               | 0,59<br>0,025 | 0 |   |   | 0                                            |               |   | 0 |   |   |
| 962                | 0                                         |               |               | 0 |   |   | 0                                            | 0,37<br>0,05  |   | 0 |   |   |
| 963                | 0                                         |               |               | 0 |   |   | 0                                            |               |   | 0 |   |   |
| 964                | 0                                         |               |               | 0 |   |   | 0                                            |               |   | 0 |   |   |
| 1011               |                                           |               | 0,52<br>0,001 | 0 |   |   |                                              | 0,69<br>0,001 |   | 0 |   |   |
| 1012               |                                           | 0,58<br>0,001 |               | 0 |   |   | 0                                            |               |   | 0 |   |   |



Tableau D 4

| N° des<br>cell. | PARAMETRES |       |           | Partic. |
|-----------------|------------|-------|-----------|---------|
|                 | $S_E^2$    | $C_V$ | $\bar{x}$ |         |
| 961             | 12,45      | 0,23  | 15,24     | 0       |
| 962             | 9,23       | 0,20  | 14,97     | 0       |
| 963             | 8,71       | 0,21  | 14,34     | 0       |
| 964             | 17,24      | 0,27  | 15,25     | 0       |
| 1011            | 3,66       | 0,25  | 7,70      | 0       |
| 1012            | 5,77       | 0,36  | 6,74      | 0       |



## A N N E X E    I V

### ANALYSE DE VARIANCE A TROIS FACTEURS ET INTERACTIONS

- TABLEAU D'ANALYSE
- ORGANIGRAMMES
- LISTING DU PROGRAMME
- EXEMPLE NUMERIQUE



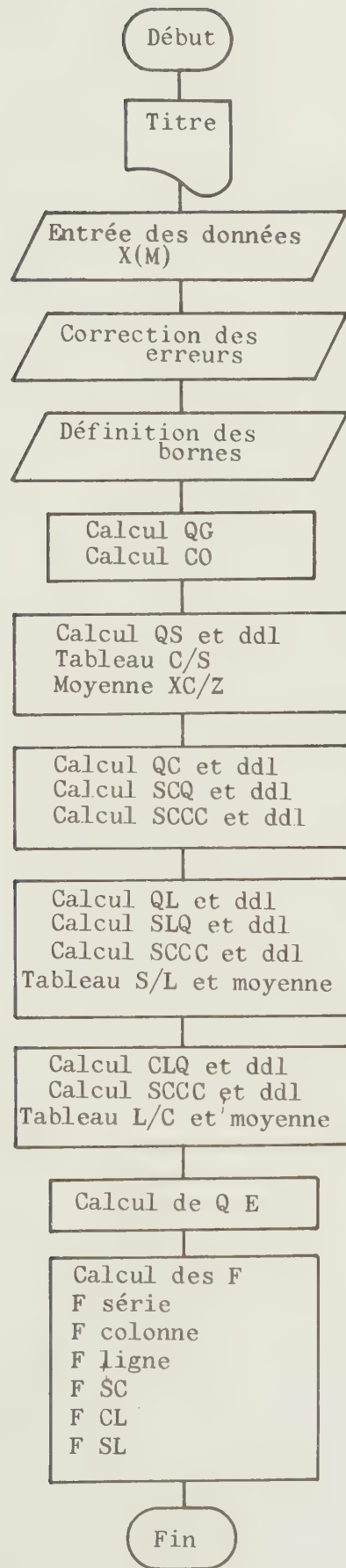


# ANALYSE DE VARIANCE A TROIS FACTEURS CONTROLES ET INTERACTIONS

| Origine de la variation | Somme des carrés                                                       | Degrés de liberté (d.d.l)             | Carré moyen                                                |
|-------------------------|------------------------------------------------------------------------|---------------------------------------|------------------------------------------------------------|
| Effet principal T....   | $Q_T = \frac{\sum_i x_{i100}^2}{k_t k_I} - (C)$                        | $v_T = k_T - 1$                       | $s_T^2 = \frac{Q_T}{v_T}$                                  |
| Effet principal t....   | $Q_t = \frac{\sum_j x_{j0j0}^2}{k_T k_I} - (C)$                        | $v_t = k_t - 1$                       | $s_t^2 = \frac{Q_t}{v_t}$                                  |
| Effet principal I....   | $Q_I = \frac{\sum_s x_{s00s}^2}{k_T k_t} - (C)$                        | $v_I = k_I - 1$                       | $s_I^2 = \frac{Q_I}{v_I}$                                  |
| Interaction T x t.....  | $Q_{T \times t} = \frac{\sum_{ij} x_{ij0j0}^2}{k_I} - (C) - Q_T - Q_t$ | $v_{T \times t} = (k_T - 1)(k_t - 1)$ | $s_{T \times t}^2 = \frac{Q_{T \times t}}{v_{T \times t}}$ |
| Interaction T x I.....  | $Q_{T \times I} = \frac{\sum_{is} x_{is0s}^2}{k_t} - (C) - Q_T - Q_I$  | $v_{T \times I} = (k_T - 1)(k_I - 1)$ | $s_{T \times I}^2 = \frac{Q_{T \times I}}{v_{T \times I}}$ |
| Interaction t x I.....  | $Q_{t \times I} = \frac{\sum_{js} x_{js0js}^2}{k_T} - (C) - Q_t - Q_I$ | $v_{t \times I} = (k_t - 1)(k_I - 1)$ | $s_{t \times I}^2 = \frac{Q_{t \times I}}{v_{t \times I}}$ |
| Erreur.....             | $Q_E = (\text{par différence})$                                        | $v_E = (k_T - 1)(k_t - 1)(k_I - 1)$   | $s_E^2 = \frac{Q_E}{v_E}$                                  |
| Total.....              | $Q = \sum_{ijs} x_{ijs}^2 - (C)$                                       | $k_T k_t k_I - 1$                     | -                                                          |

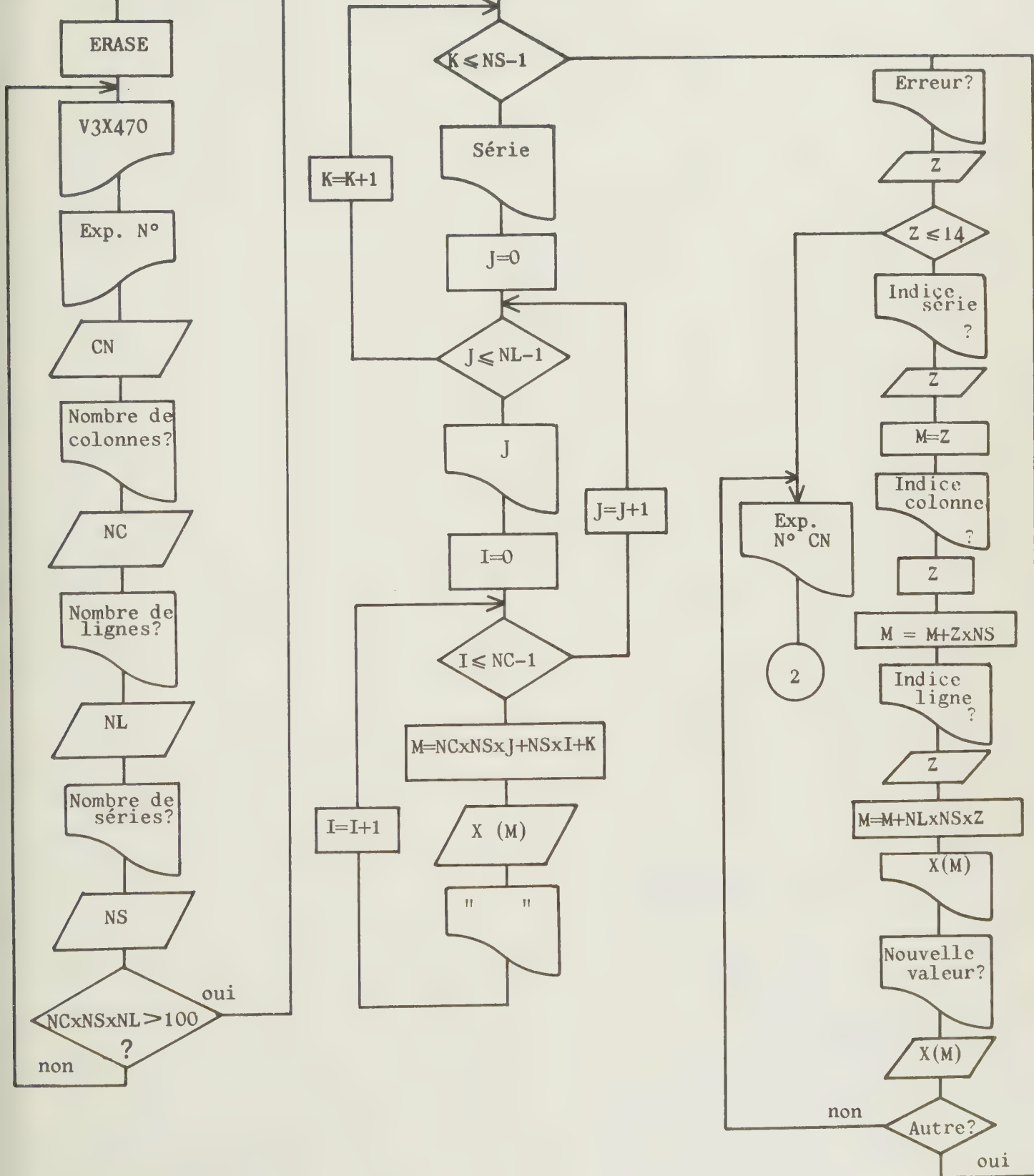
$$(C) = \text{terme de centrage ou correction} = \frac{\sum x^2}{k_T k_t k_I} = k_T k_t k_I \bar{x}^2 = X \cdot \bar{x}.$$



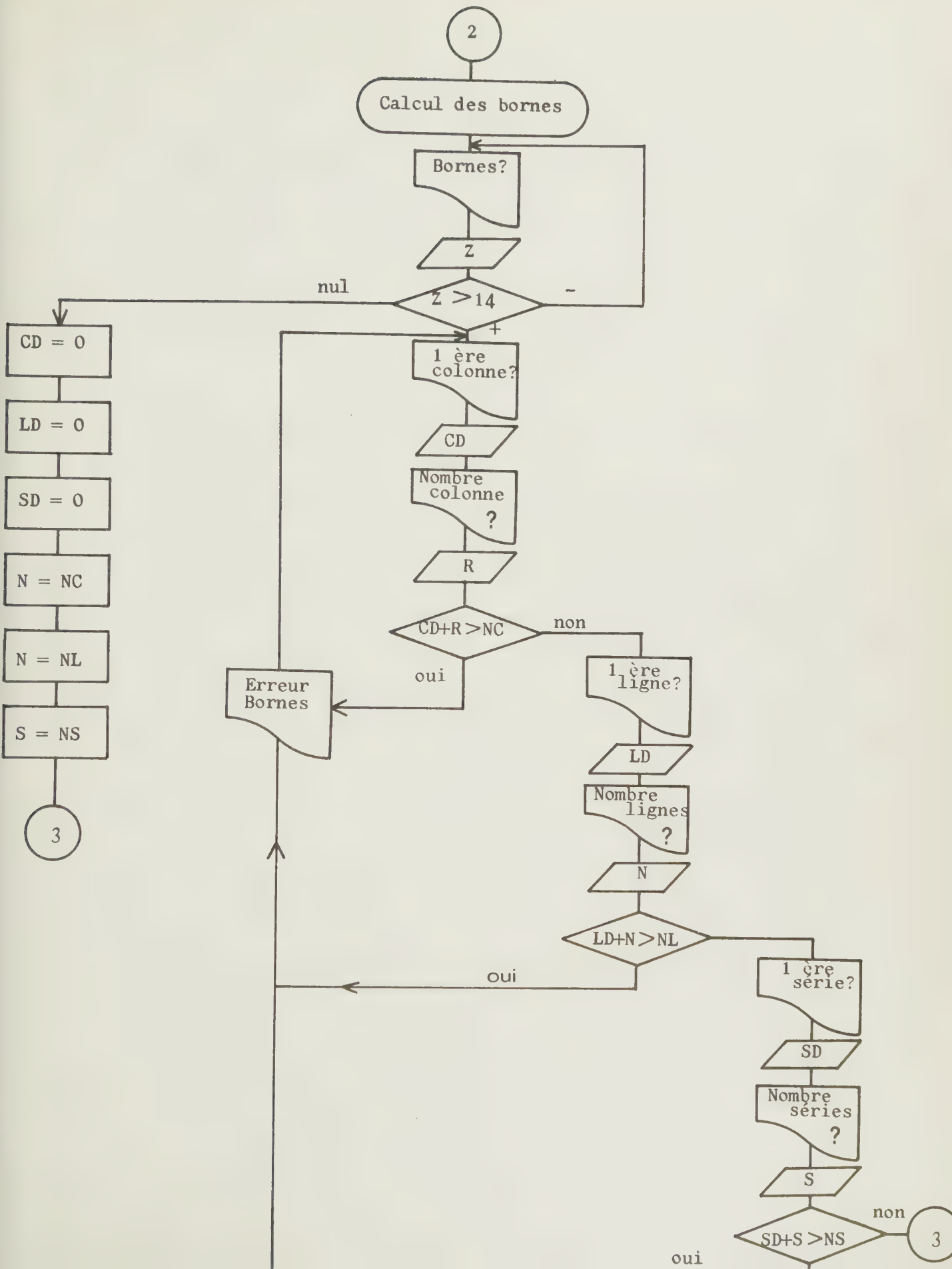




Données par séries











3

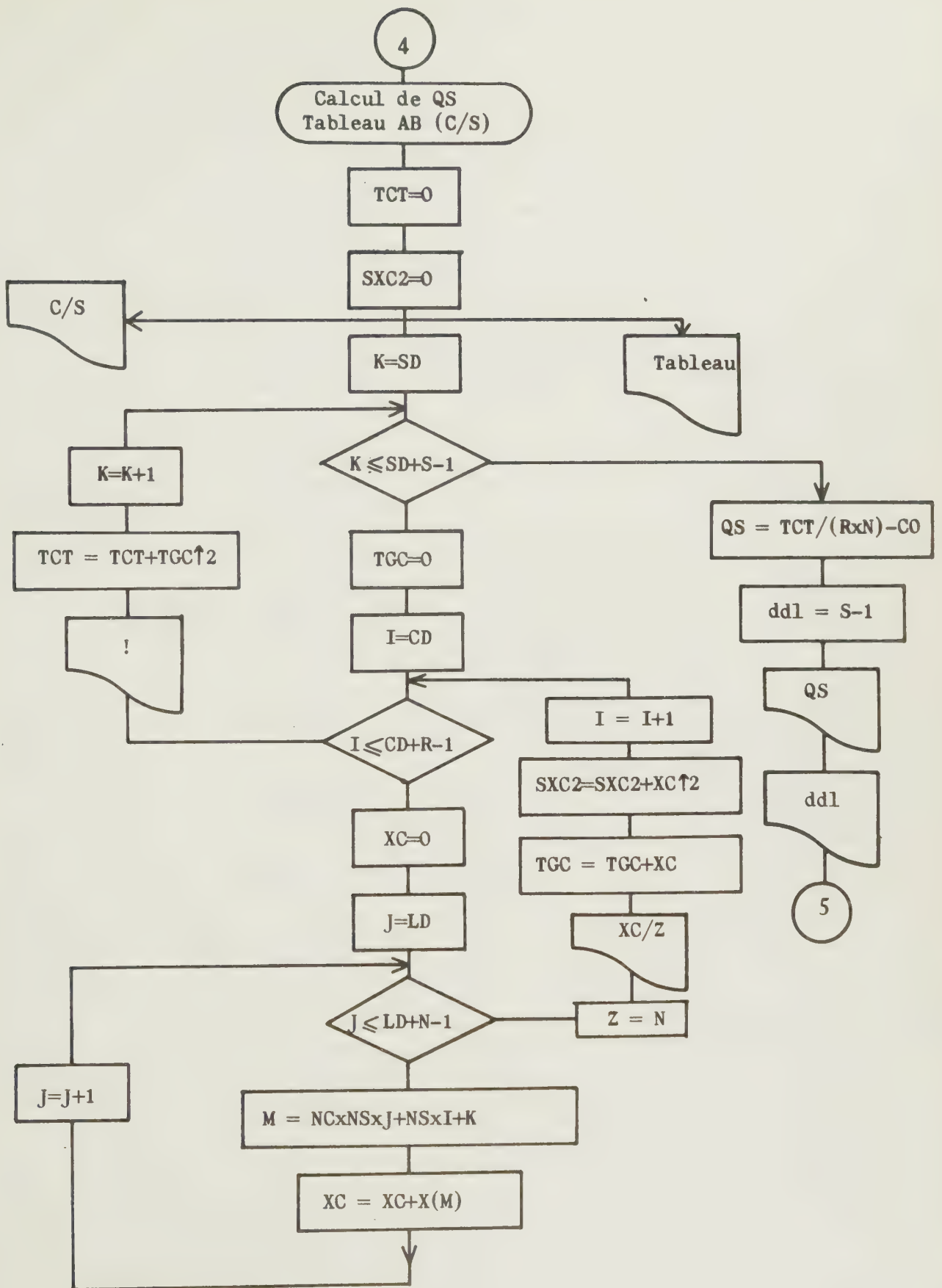
C terme correction  
et variation totale $T=0$  $TX2=0$  $J=LD$  $J \leq LD+N-1$  $J=J+1$  $I = CD$  $I \leq CD+R-1$  $I=I+1$  $K = SD$  $K \leq SD+S-1$  $K=K+1$  $M=NCxNSxJ+NSxI+K$  $T=T+X(M)$  $TX2=TX2+X(M)^2$  $CO = T^2 / (NxRxS)$  $QG = TX2 - CO$ 

QG

ddl=  
 $NxRxS-1$ 

4







5

Calcul de QC et SCQ

TCT=0

I=CD

 $I \leq CD+R-1$ 

non

I = I+1

 $TCT = TCT + TGC \uparrow 2$ 

TGC=0

K=SD

 $K \leq SD+S-1$ 

non

K = K+1

XC = 0

 $TGC = TGC + XC$ 

J = LD

Z = R-1

 $LD \leq LD+N-1$ 

non

J = J+1

 $M = NL \times NS \times J + NS \times I + K$  $XC = XC + X(M)$  $QC = TCT / (S \times N) - CO$ 

Z = R-1

QC

ddl

Z

 $ddl = ddl + Z$  $SCQ = SXC2 / N - CO - (QS + QC)$ 

SCQ

ddl

 $Z = (S \times R - 1) - (S - 1) - (R - 1)$ 

ddl=Z

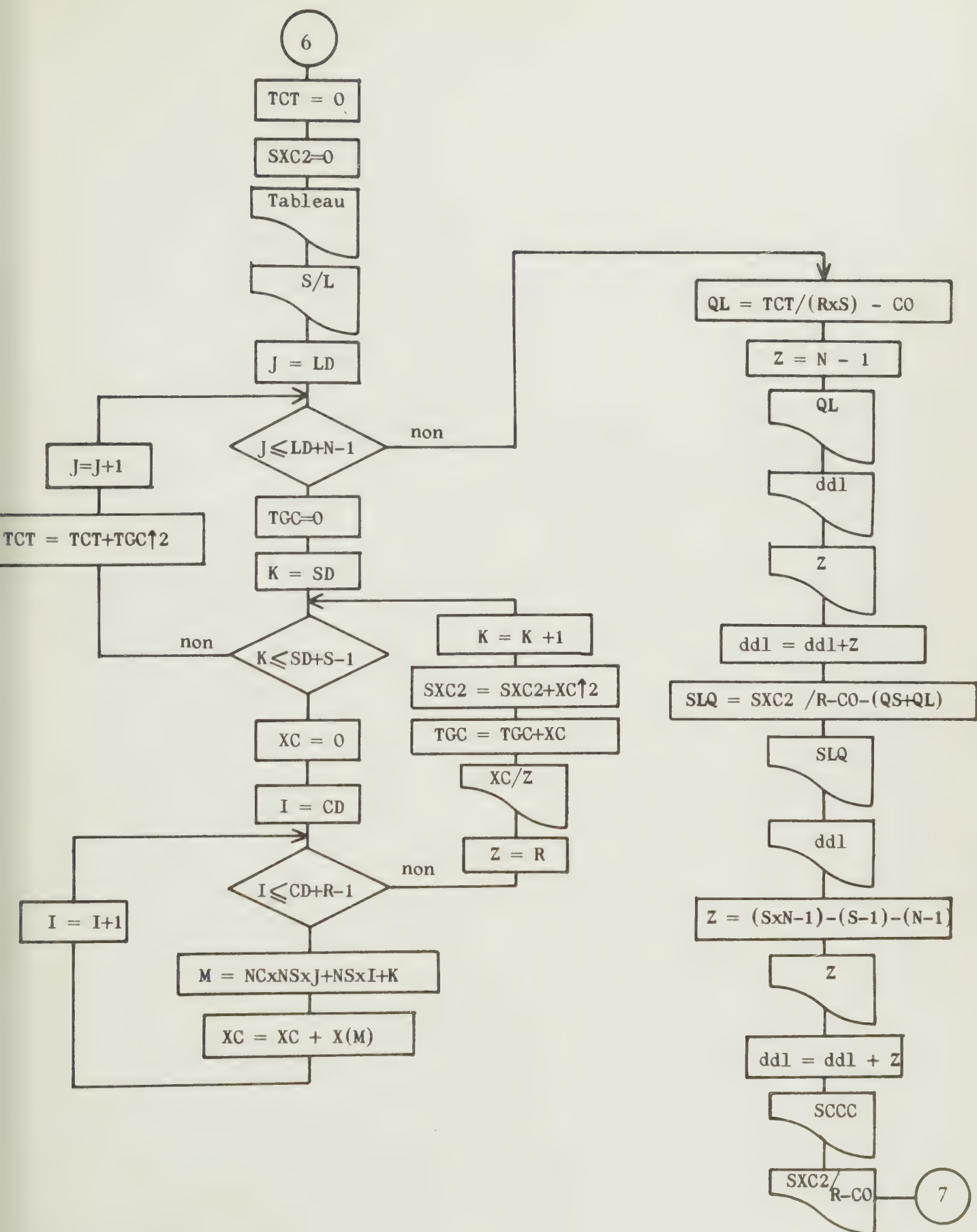
 $ddl = ddl + Z$ 

SCCC

 $SXC2 / N - CO$ 

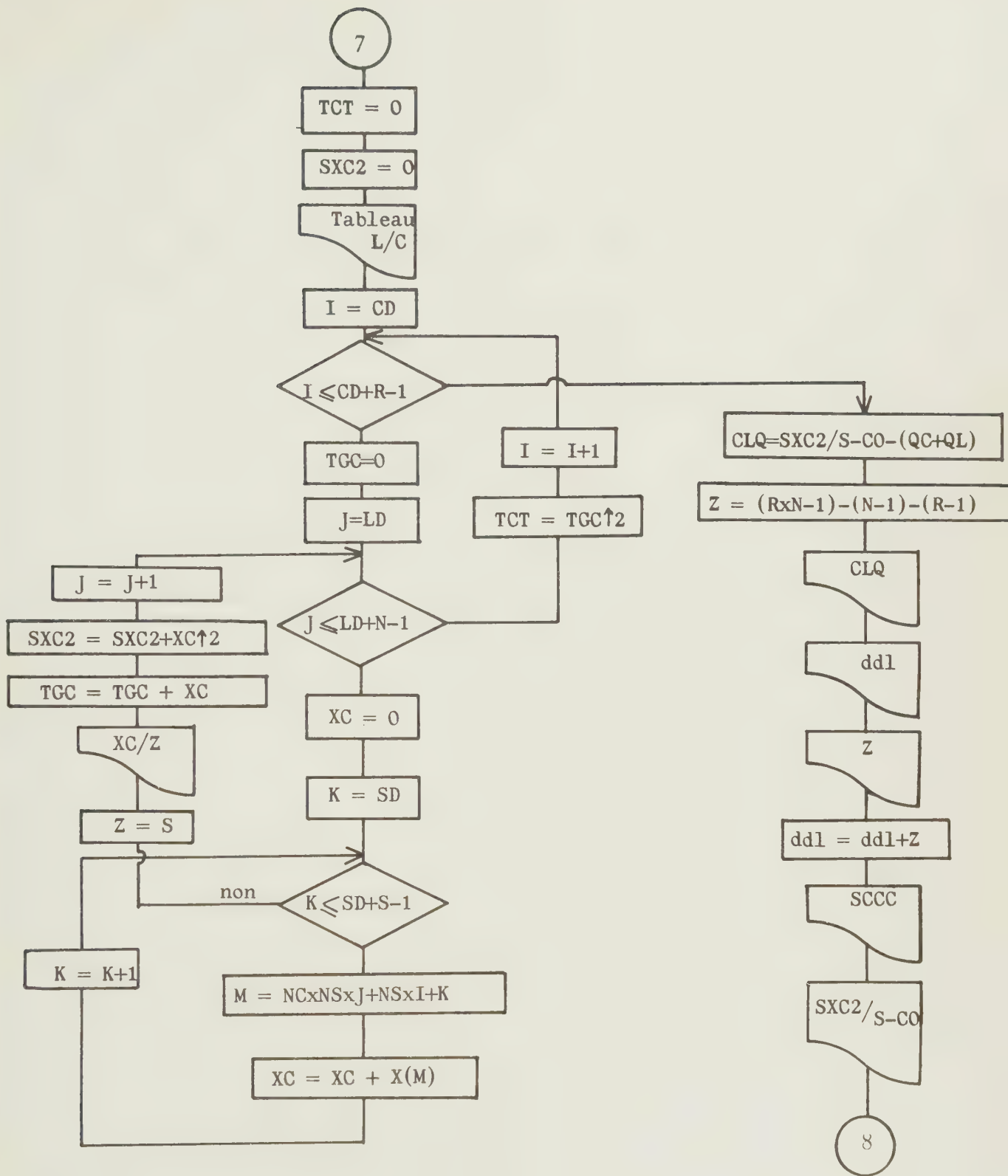
6













8

$$QE = QG - (QS + QC + QL + SLQ + SCQ + CLQ)$$

Q E

$$ddl = N \times R \times S - 1 - ddl$$

ddl

9



Calculs des "F"

$$SE2 = QE / ddl$$

SE2

$$QS / (S - 1) \times SE2$$

F "série"

$$QC / (R - 1) \times SE2$$

F "colonne"

$$QL / N - 1$$

F "ligne"

$$SCQ / Z \times SE2$$

F "SC "

$$CLQ / Z \times SE2$$

F "CL"

$$SLQ / Z \times SE2$$

F "SL"

Fin test





ANALYSE DE VARIANCE A TROIS FACTEURS ET INTERACTIONS  
(listing du programme)

(1)

W A  
C-8K FOCAL 01969

```

01.01 C DONNEES PAR SERIES
01.02 ERASE;
01.04 T !,"V3X 470",!; D 1.30; T !,"NBRE COL    "; A NC;
01.05 T !,"NBRE LIGNES"; A NL; T !,"NBRE SERIES"; A NS; D 12.01;
01.06 I (NC*NL*NS -100) 1.08,1.08,1.04;
01.08 F K=0,NS-1; T !,"SERIE ",%2.00,K; D 1.10;
01.09 T !,"ERREUR?"; A Z; I (Z-14) 1.09,1.32,1.22;
01.10 F J=0,NL-1; T !,"(",J,")    "; D 1.12;
01.12 F I=0,NC-1; D 1.14; A X(M); T " ";
01.14 S M=NC*NS*J+NS*I+K;
01.22 T !,"INDICE    DE SERIE?"; A Z; S M=Z;
01.24 T " DE COL.?"; A Z; S M=M+Z*NS;
01.26 T " DE LIGNE?"; A Z; S M=M+NC*NS*Z;
01.28 T !,%5.02,"X(",M,")",X(M)," ", "NOUV. VALEUR?"; A X(M); GOTO 1.09;
01.30 T !,"EXP NO?"; A CN;
01.32 T !!!!!,%4.00,"EXP.NO",CN,!

02.01 C BORNES.
02.02 T !," BORNES?"; A Z; I (Z-14) 2.02,2.04,2.06;
02.04 S CI=0; S LI=0; S SD=0; S R=NC; S N=NL; S S=NS; GOTO 3.02;
02.06 T !,"PREM.COL?"; A CI; T " NBRE COL?"; A R;
02.07 I (CI+R-NC) 2.08,2.08,2.16;
02.08 T !,"PREM.LIGNE"; A LI; T " NBRE LI."; A N;
02.09 I (LI+N-NL) 2.10,2.10,2.16;
02.10 T !,"PREM.SERIE"; A SD; T " NBRE SERIES"; A S;
02.11 I (SD+S-NS) 3.02,3.02,2.16;
02.16 T "ERREUR BORNE"; GOTO 2.06;
02.18 D 2.08; S S=NS; I (LI+N-NL) 3.02,3.02,2.16;
02.20 I (NS-1) 2.18,2.18,2.10;

03.01 C CALC. TERM. DE CORR. ET VARIAT. TOTALE.
03.02 S T=0; S TX2=0; T %5.02;
03.04 F J=LI,LI+N-1; F I=CI,CI+R-1; F K=SD,SD+S-1; D 1.14; D 3.10
03.06 S CO=T*2/(N*R*S); S QG=TX2-CO; T !,"?QG?"," DIL",N*R*S-1;
03.08 T " S2",QG/(N*R*S-1); GOTO 4.02
03.10 S T=T+X(M); S TX2=TX2+X(M)*2;

04.01 C CALCUL QS. TABLEAU AB (C/S)
04.02 S TCT=0; S SXC2 =0; T !,"TABL. ";
04.03 T "C/S";
04.04 F K=SD,SD+S-1; S TGC=0; T !; DO 4.10; DO 4.40;
04.06 S QS=TCT/(R*N)-CO; S DIL=S-1; T !,"?QS?"," ",? DIL?;
04.08 GOTO 5.02;
04.10 F I=CI,CI+R-1; S XC=0; DO 4.20; S Z=N; T %4.02; DO 4.30; DO 4.32; T %5.02
04.20 F J=LI,LI+N-1; DO 1.14; S XC=XC+X(M);
04.30 T XC/Z; S TGC=TGC+XC;
04.32 S SXC2=SXC2+XC*2;
04.40 S TCT=TCT+TGC*2;

```





```

05.01 C CALCUL QC ET SCQ
05.02 S TCT=0;
05.04 F I=CD, CD+R-1; S TGC=0; D 5.10; DO 4.40;
05.06 S QC=TCT/(S*N)-CO; S Z=R-1; T !, ?QC?, " DIL ", Z;
05.08 S DIL=DIL+Z; GO TO 5.40
05.10 F K=SD, SD+S-1; S XC=0; DO 5.20; DO 5.30;
05.20 F J=LD, LD+N-1; D 1.14; S XC=XC+X(M);
05.30 S TGC=TGC+XC;
05.40 S SCQ=SXC2/N-CO-(QS+QC); T !, ?SCQ?, " DIL ";
05.42 S Z=(S*R-1)-(S-1)-(R-1);
05.44 T Z; S DIL=DIL+Z;
05.46 T !, " SCCC ", SXC2/N-CO;
05.48 T !, "MOY/S", !; F K=SD, SD+S-1; S TGC=0; T !; D 5.60; S Z=R*N; D 5.62;
05.50 GO TO 6.02;
05.60 F I=CD, CD+R-1; F J=LD, LD+N-1; D 1.14; D 5.64;
05.62 T TGC/Z, " (", TGC, ")";
05.64 S TGC=TGC+X(M);

```

```

06.01 C CALCUL QL ET SLQ. TABLEAU AC (S/L).
06.02 DO 4.02; T "S/L";
06.04 F J=LD, LD+N-1; S TGC=0; T !; DO 6.10; DO 4.40;
06.06 S QL=TCT/(R*S)-CO; S Z=N-1; T !, ?QL?, " DIL ", Z;
06.08 S DIL=DIL+Z; GO TO 6.40
06.10 F K=SD, SD+S-1; S XC=0; D 6.20; S Z=R; T %4.02; I 4.30; D 4.32; T %5.02;
06.20 F I=CD, CD+R-1; D 1.14; S XC=XC+X(M);
06.40 S SLQ=SXC2/R-CO-(QS+QL); T !, ?SLQ?, " DIL ";
06.42 S Z=(S*N-1)-(S-1)-(N-1);
06.44 D 5.44;
06.46 T !, " SCCC ", SXC2/R-CO;
06.48 T !, "MOY/L", !; F J=LD, LD+N-1; S TGC=0; T !; D 6.60; S Z=S*R; D 5.62;
06.50 GO TO 7.02;
06.60 F K=SD, SD+S-1; F I=CD, CD+R-1; D 1.14; D 5.64;

```

```

07.01 C CALCUL CLQ TABLEAU BC (L/C).
07.02 D 4.02; T "L/C";
07.04 F I=CD, CD+R-1; S TGC=0; T !; DO 7.10; D 4.40;
07.06 S CLQ=SXC2/S-CO-(QC+QL); S Z=(R*N-1)-(N-1)-(R-1); T !, ?CLQ?, " DIL ";
07.08 S DIL=DIL+Z; T !, " SCCC ", SXC2/S-CO; GO TO 7.48;
07.10 F J=LD, LD+N-1; S XC=0; DO 7.20; S Z=S; T %4.02; DO 4.30; D 4.32; T %5.02;
07.20 F K=SD, SD+S-1; DO 1.14; S XC=XC+X(M);
07.48 T !, "MOY/C", !; F I=CD, CD+R-1; S TGC=0; T !; D 7.60; S Z=S*N; D 5.62;
07.50 GO TO 8.02;
07.60 F K=SD, SD+S-1; F J=LD, LD+N-1; D 1.14; D 5.64;

```



08.01 C CALCUL DE QE.

08.02 S  $QE = QG - (QS + QC + QL + SCQ + SLQ + CLQ)$ ;

08.04 T !!, ?QE?; S  $DDL = N * R * S - 1 - DDL$ ; T " ", ?DDL?, "(NU2)";

09.01 C CALCUL DES "F".

09.02 S  $SE2 = QE / (DDL)$ ; T !!, ?SE2?, !;

09.03 T !!, "MOY.X",  $T / (R * N * S)$ , !, " CV",  $FSQT(SE2) / (T / (R * N * S))$ , !

09.04 T !, "F SERIE",  $QS / ((S - 1) * SE2)$ ;

09.06 T !, "F COL.",  $QC / ((R - 1) * SE2)$ ;

09.08 T !, "F LI.",  $QL / ((N - 1) * SE2)$ ;

09.10 D 5.42; T !, "F SC",  $SCQ / (Z * SE2)$ ;

09.12 S  $Z = (R * N - 1) - (N - 1) - (R - 1)$ ; T !, "F CL",  $CLQ / (Z * SE2)$ ;

09.14 D 6.42; T !, "F SL",  $SLQ / (Z * SE2)$ ;

10.01 C CALC. MINIM. SIGNIF. ENTRE LIG., COL., SERIES, CASES;

10.04 T !!, "EC. MIN. SIGNIF.", !!, "ENTRE LIGNES";

10.06 S  $Z = R * S$ ; D 13

10.10 T "ENTRE COL. "; S  $Z = N * S$ ; D 13

10.14 T "ENTRE SERIES"; S  $Z = R * N$ ; D 13

10.18 T !, "ENTRE CASES", !, "C/S"; S  $Z = N$ ; D 13

10.22 T !, "S/L"; S  $Z = R$ ; D 13

10.26 T !, "L/C"; S  $Z = S$ ; D 13; GOTO 1.32;

11.01 T !, "INVERS. C/S?"; A Z; I (Z-14) 11.01, 1.32;

11.02 D 4.02; T " S/C";

11.04 F  $I = CD, CD + R - 1$ ; T !; D 11.10;

11.06 GOTO 1.32;

11.10 F  $K = SD, SD + S - 1$ ; S  $XC = 0$ ; D 4.20; S  $Z = N$ ; D 4.30;

12.01 T ! "NBRE DE DONNEES"; A Z;

13.01 C SUBROUT. DU CALC. ECART MINI. SIGNIF.

13.02 I (Z-8) 13.04, 13.04, 13.06;

13.04 T !, "TL POUR DIL", Z-1, " ? "; A TL; T "(ALPHA"; A ND; T "%)"; D 13.10;

13.06 S  $TL = 2$ ; D 13.10; GOTO 13.12;

13.08 T " AUTRE?"; A TGC; I (TGC-14) 13.08, 13.12, 13.04;

13.10 T  $FSQT(SE2) * FSQT(2/Z) * TL$ ;

13.12 T !; RETURN;

\*



(exemples numériques)

G

V3X 470

EXP NO?: 3761  
NBRE COL : 5  
NBRE LIGNES: 3  
NBRE SERIES: 5  
NBRE DE DONNEES: 75

SERIE = 0

|       |    |    |     |    |     |
|-------|----|----|-----|----|-----|
| (= 0) | :0 | :0 | :0  | :0 | :1  |
| (= 1) | :3 | :1 | :5  | :2 | :2  |
| (= 2) | :7 | :7 | :12 | :2 | :10 |

SERIE = 1

|       |     |     |     |     |     |
|-------|-----|-----|-----|-----|-----|
| (= 0) | :4  | :2  | :4  | :5  | :4  |
| (= 1) | :10 | :30 | :27 | :18 | :15 |
| (= 2) | :17 | :13 | :13 | :13 | :13 |

SERIE = 2

|       |    |     |     |    |    |
|-------|----|-----|-----|----|----|
| (= 0) | :0 | :0  | :1  | :1 | :0 |
| (= 1) | :2 | :5  | :2  | :7 | :3 |
| (= 2) | :2 | :15 | :19 | :6 | :2 |

SERIE = 3

|       |     |     |     |     |    |
|-------|-----|-----|-----|-----|----|
| (= 0) | :0  | :3  | :4  | :1  | :1 |
| (= 1) | :0  | :10 | :13 | :10 | :8 |
| (= 2) | :12 | :25 | :16 | :8  | :4 |

SERIE = 4

|       |    |    |     |     |     |
|-------|----|----|-----|-----|-----|
| (= 0) | :0 | :3 | :5  | :6  | :4  |
| (= 1) | :2 | :6 | :8  | :14 | :10 |
| (= 2) | :4 | :0 | :15 | :13 | :7  |

ERREUR?: N



EXP.NO= 3761

BORNES7:N

QG= 3379.2 DDL= 74.00 S2= 45.67

TABL. C/S

|          |        |        |        |       |
|----------|--------|--------|--------|-------|
| = 3.33=  | 2.67=  | 5.67=  | 1.33=  | 4.33  |
| = 10.33= | 15.00= | 14.67= | 12.00= | 10.67 |
| = 1.33=  | 6.67=  | 7.33=  | 4.67=  | 1.67  |
| = 4.00=  | 12.67= | 11.00= | 6.33=  | 4.33  |
| = 2.00=  | 3.00=  | 9.33=  | 11.00= | 7.00  |

QS= 763.28 DDL= 4.00  
 QC= 262.61 DDL = 4.00  
 SCQ= 289.92 DDL= 16.00  
 SCCC = 1315.8

MOY/S

|         |            |
|---------|------------|
| = 3.47  | (= 52.00)  |
| = 12.53 | (= 188.00) |
| = 4.33  | (= 65.00)  |
| = 7.67  | (= 115.00) |
| = 6.47  | (= 97.00)  |

TABL. S/L

|         |        |       |        |      |
|---------|--------|-------|--------|------|
| = 0.20= | 3.80=  | 0.40= | 1.80=  | 3.60 |
| = 2.60= | 20.00= | 3.80= | 8.20=  | 8.00 |
| = 7.60= | 13.80= | 8.80= | 13.00= | 7.80 |

QL= 947.95 DDL= 2.00  
 SLQ= 418.72 DDL= 8.00  
 SCCC= 2130.0

MOY/L

|         |            |
|---------|------------|
| = 1.96  | (= 49.00)  |
| = 8.52  | (= 213.00) |
| = 10.20 | (= 255.00) |

TABL. L/C

|         |        |       |
|---------|--------|-------|
| = 0.80= | 3.40=  | 8.40  |
| = 1.60= | 10.40= | 12.00 |
| = 2.80= | 11.00= | 15.00 |
| = 2.60= | 10.20= | 8.40  |
| = 2.00= | 7.60=  | 7.20  |





CLQ= 156.99 DDL= 8.00

SCCC= 1367.6

MOY/C

= 4.20 (= 63.00)

= 8.00 (= 120.00)

= 9.60 (= 144.00)

= 7.07 (= 106.00)

= 5.60 (= 84.00)

QE= 539.68 DDL= 32.00(NU2)

SE2= 16.87

MOY.X= 6.89

CV= 0.60

F SERIE= 11.32

F COL.= 3.89

F LI.= 28.10

F SC= 1.08

F CL= 1.16

F SL= 3.10

EC.MIN.SIGNIF.

ENTRE LIGNES= 2.32

ENTRE COL. = 3.00

ENTRE SERIES= 3.00

ENTRE CASES

C/S

TL POUR DDL= 2.00 ? : 4.3 (ALPHA: 5 %)= 14.42 AUTRE?:N

S/L

TL POUR DDL= 4.00 ? : 2.7 (ALPHA: 5 %)= 7.01 AUTRE?:N

L/C

TL POUR DDL= 4.00 ? : 2.7 (ALPHA: 5 %)= 7.01 AUTRE?:N



## A N N E X E    V

|                          |   |                     |
|--------------------------|---|---------------------|
| TEST DE LINEARITE        | ) |                     |
|                          | ) |                     |
|                          | ) | Exemples numériques |
| REGRESSIONS POLYNOMIALES | ) |                     |



TEST DE LINEARITE ET CALCUL DU SEUIL THEORIQUE  
(exemples numériques)

EXP.NO= 3761

VALEUR FACT. LIGNE?

= 0 : 5  
= 1 : 10  
= 2 : 15

LIGNES LIN OU LOG ? : LIN  
VARIABLE LIN OU LOG ? : LIN

BORNES ? : N

PAS DE X ? : 2

MOY/LIGNE , DIL= 24 TL: 2.06

T= 49.00 XB= 1.96 S2= 3.88 CV= 1.01

T= 213.00 XB= 8.52 S2= 57.21 CV= 0.89

T= 255.00 XB= 10.20 S2= 36.16 CV= 0.59

MOY Y= 10.00

MOY X= 6.89

B= 0.83

C= - 1.35

(X=BY+C)



X AU REPOS ? : 1 SEUIL CALC.= 2.85

R= 0.50 N= 75.00

T LIM./ALPHA 5% & DIL= 72.00 ? : 1.98

= 0.50 < B < = 1.15

F, REGR. LIN. = 25.14 NU1= 1.00

F, REGR. NON LIN. = 2.94 NU1= 1.00

NU2= 72.00

S. CARRES EC.

TOT. = 3379.2

DUS AUX LI.= 947.95

(REGR. LIN = 848.72)

(R. NON LIN= 99.23)

DUS AUX COL= -3563.9



REGRESSIONS POLYNOMIALES  
(exemples numériques)

G

POLY ORTHOG. 570  
EXP.NO?:3761L

NBRE LI.(GROUPEs)?:3 Effet de l'intensité  
COL?:5  
SER?:5  
VAR RESID?:16.8

TOT/LI.(GROUPEs)?  
:49  
:213  
:255

| REGR  | F       | B                                  |
|-------|---------|------------------------------------|
| LIN   | = 50.52 | = 4.12(= 2.96 - = 5.28) = 848.72   |
| QUADR | = 5.91  | =- 0.81(=- 0.15 - =- 1.48) = 99.23 |

NU1=1, NU2= 72.00

\*G

POLY ORTHOG. 570  
EXP.NO?:3761C

NBRE LI.(GROUPEs)?:5 Effet du temps à court terme  
COL?:3  
SER?:5  
VAR RESID?:16.8

TOT/LI.(GROUPEs)?  
:63  
:120  
:144  
:106  
:84

| REGR  | F       | B                                   |
|-------|---------|-------------------------------------|
| LIN   | = 0.31  | = 0.19(=- 0.48 - = 0.86) = 5.23     |
| QUADR | = 13.72 | =- 1.05(=- 0.48 - =- 1.61) = 230.48 |
| CUB.  | = 0.95  | = 0.33(=- 0.34 - = 1.00) = 16.01    |

NU1=1, NU2= 70.00

\*









Vu.

Les membres du jury :

J. CHANEL

J.M. LEGAY

A. HOLLEY

P. GERIN

Vu et approuvé.

Le Directeur de l'U.E.R.  
de BIODYNAMIQUE et  
PSYCHOPEDAGOGIE

J. CHANEL

Vu et accordé le permis d'imprimer.

Lyon, le 7 juillet 1971

Le président de l'Université  
Claude Bernard,

J. BOLDIN





